

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année de soutenance : 2019

N°:

THESE POUR LE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 11 juin 2019

Par Guillaume PISKORSKI

Né le 3 octobre à Dechy – France

**MÉDICATION INTRACANALAIRE EN ENDODONTIE : HYDROXYDE DE
CALCIUM ET CHLORHEXIDINE**

JURY

Président : Monsieur le Professeur Etienne DEVEAUX

Assesseurs : Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Monsieur le Docteur Kévimy AGOSSA

Madame le Docteur Kadiatou SY

Président de l'Université	:	Pr. J-C. CAMART
Directeur Général des Services de l'Université	:	P-M. ROBERT
Doyen	:	Pr. E. DEVEAUX
Vice-Doyens PENEL	:	Dr. E. BOCQUET, Dr. L. NAWROCKI et Pr. G.
Responsable des Services	:	S. NEDELEC
Responsable de la Scolarité	:	M. DROPSIT

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'U.F.R.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES :

P. BEHIN	Prothèses
T. COLARD	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
E. DELCOURT-DEBRUYNE	Professeur Emérite Parodontologie
E. DEVEAUX	Dentisterie Restauratrice Endodontie Doyen de la Faculté
G. PENEL	Responsable du Département de Biologie Orale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

K. AGOSSA	Parodontologie
T. BECAVIN	Dentisterie Restauratrice Endodontie
A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
P. BOITELLE	Prothèses
F. BOSCHIN	Responsable du Département de Parodontologie
E. BOCQUET	Responsable du Département d' Orthopédie Dento-Faciale
C. CATTEAU	Responsable du Département de Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
A. de BROUCKER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
M. DEHURTEVENT	Prothèses
T. DELCAMBRE	Prothèses
C. DELFOSSE	Responsable du Département d' Odontologie Pédiatrique
F. DESCAMP	Prothèses
A. GAMBIEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
P. HILDELBERT	Responsable du Département de Dentisterie Restauratrice Endodontie
C. LEFEVRE	Prothèses
J.L. LEGER	Orthopédie Dento-Faciale
M. LINEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Responsable du Département de Chirurgie Orale Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin - CHRU Lille
C. OLEJNIK	Biologie Orale
P. ROCHER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
L. ROBBERECHT	Dentisterie Restauratrice Endodontie
M. SAVIGNAT	Responsable du Département des Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
T. TRENTESAUX	Odontologie Pédiatrique
J. VANDOMME	Responsable du Département de Prothèses

Réglementation de présentation du mémoire de Thèse

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université de Lille a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'ainsi aucune approbation, ni improbation ne leur est donnée.

Remerciements

Aux membres du jury

Monsieur le Professeur Etienne DEVEAUX

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

Section Réhabilitation Orale

Département Dentisterie Restauratrice Endodontie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Sciences Odontologiques

Docteur en Odontologie de l'Université de Lille 2

Habilité à Diriger des Recherches

Doyen de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Lille

Membre associé national de l'Académie de Chirurgie Dentaire

Personne Compétente en Radioprotection

Ancien Président de la Société Française d'Endodontie

Chevalier dans l'ordre des palmes académiques.

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et je vous en remercie. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect pour votre rigueur, votre savoir et la qualité de votre enseignement.

Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

*Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale
Département Biologie Orale*

Docteur en Chirurgie Dentaire

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon respect pour l'enseignement que vous m'avez fourni ainsi que pour le suivi tout au long de mon parcours hospitalier.

Monsieur le Docteur Kévimy AGOSSA

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

*Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale
Département Parodontologie*

Docteur en Chirurgie Dentaire

Master II « Évaluation médico-économique et recherche clinique » Certificat d'Études Supérieures de Parodontologie

Attestation d'Études Approfondies en Odontologie

Ancien Assistant des Hospices Civils de Lyon

Ancien Interne en Odontologie

Lauréat de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire

C'est un honneur de vous compter parmi les membres de mon jury. J'ai toujours su apprécier la passion avec laquelle vous m'avait transmis votre savoir, ce qui en fait la qualité de votre enseignement. Vous avez également dirigé mon mémoire de Master, je vous en suis profondément reconnaissant. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

Madame le Docteur Kadiatou SY

Assistante Hospitalo-Universitaire des CSERD

Section Réhabilitation Orale

Département Dentisterie Restauratrice Endodontie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Master II

Vous avez accepté de m'accorder votre confiance et de diriger cette thèse. Je vous en suis profondément reconnaissant. J'ai toujours apprécié votre savoir, votre rigueur et votre sympathie lors de mon stage de Master. Je vous remercie de m'aider à apporter la rigueur nécessaire à la réalisation de cette thèse.

A ma famille, à mes amis...

Table des matières

1	Abréviations	14
2	Introduction	16
3	Infections persistantes en endodontie	18
3.1	Voies de contamination de l'infection initiale.....	18
3.1.1	Liée à une exposition pulpaire	19
3.1.2	Liée à des anomalies dentaires	20
3.1.3	Liée à une lésion du parodonte.....	20
3.1.4	Par voie générale, via la circulation sanguine, par anachorèse.....	20
3.2	Causes et conséquences de la persistance bactérienne.....	21
3.2.1	Causes.....	22
3.2.1.1	Persistance bactérienne après la procédure de désinfection endodontique et après la médication intracanaire	22
3.2.1.2	Persistance bactérienne après l'obturation canalaire.....	22
3.2.2	Conséquences de la persistance bactérienne	26
3.3	Bactéries impliquées	26
3.4	Voies de signalisation pour la création de la LIPOE	31
3.5	Manifestations et solutions cliniques.....	36
4	L'hydroxyde de calcium	39
4.1	Introduction	39
4.2	Caractéristiques et mode d'action.....	39
4.2.1	Caractéristiques	39
4.2.2	Mode d'action.....	41
4.2.2.1	Activité antimicrobienne	41
4.2.2.2	Activité de minéralisation.....	42
4.3	Applications dentaires dans le cadre des infections persistantes et ses limites 43	
4.3.1	Différentes applications.....	43
4.3.2	Médicament intracanaire	43
4.3.2.1	Activité anti-endotoxique	44
4.3.2.2	Effet tampon de la dentine sur le Ca(OH) ₂	44
4.3.2.3	Synergie entre Ca(OH) ₂ et NaOCl.....	44
4.3.2.4	Activité antifongique	44
4.3.2.5	Activité contre les biofilms	45
5	La chlorhexidine	46
5.1	Introduction	46
5.2	Caractéristiques et mode d'action.....	46
5.2.1	Caractéristiques	46
5.2.2	Mode d'action.....	47
5.3	Applications dentaires dans le cadre des infections persistantes et ses limites 48	
5.3.1	Utilisation générale	48
5.3.2	Action sur les biofilms	49
5.3.3	Action sur les endotoxines	49
5.3.4	Irrigation	49
5.3.5	CHX en tant que médicament intracanaire	50

6	Étude de la combinaison hydroxyde de calcium et chlorhexidine	52
6.1	Introduction	52
6.2	Matériels et méthodes.....	52
6.2.1	Milieux réactifs et souches utilisées.....	52
6.2.2	Formulation de la pâte de Ca(OH) ₂	53
6.2.3	Libération du principe actif et mesure du pH	53
6.2.4	Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB).....	53
6.2.5	Test de diffusion	54
6.2.6	Test de Kill-Time.....	54
6.3	Résultats	55
6.3.1	Mesure du pH	55
6.3.2	Identification des souches.....	56
6.3.3	CMI/CMB	56
6.3.4	Test de diffusion	56
6.3.5	Kill-Time	59
6.4	Discussion.....	61
7	Conclusion	66
8	Liste des figures	67
9	Liste des tableaux.....	68
10	Références bibliographie.....	69

1 Abréviations

0,5 % : Concentration de chlorhexidine à 0,5%

1 % : Concentration de chlorhexidine à 1%

2% : Concentration de chlorhexidine à 2%

4 % : Concentration de chlorhexidine à 4%

ADN : Acide désoxyribonucléique

A. naeslundii : Actinomyces naeslundii

C. albicans : Candida albicans

Ca(OH)₂ : Hydroxyde de calcium

CC : Gélose Columbia cystéinée (non supplémentée en sang défibriné de cheval)

CH : Groupement méthyle

CHX : Chlorhexidine

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactéricide

Crp : Protéine de répression catabolite (catabolite repressor protein)

Cya : Adénylate cyclase

E. faecalis : Enterococcus faecalis

ED : Eau distillée

F. nucleatum : Fusobacterium nucleatum

IFN : Interférons

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

LIPOE : Lésion inflammatoire périapicale d'origine endodontique

LPS : Lipopolysaccharides

LTA : Acide lipotéichoïque

MHA : Mueller Hinton Agar

MiARN (Micro-ARN) : Petits acides ribonucléiques non codants

NaOCl : Hypochlorite de sodium

Ntr : Nitroréductase

OPG : Ostéoprotégérine

PCA : Para-chloroaniline

PG : Prostaglandine

PMN : Polymorphonucléaires

P. intermedia : *Prevotella intermedia*

RANK : Récepteur activateur pour le facteur nucléaire kappa B

RANKL : Ligand au récepteur activateur pour le facteur nucléaire kappa B

S. anginosus : *Streptococcus anginosus*

TGF : Facteur de croissance transformant (transforming growth factor)

TNF : Facteur de nécrose tumoral (tumor necrosis factor)

UFC : Unité formant colonie

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

WWL : Milieu liquide Wilkins-West

2 Introduction

L'endodontie s'intéresse à la prise en charge des pathologies de la pulpe dentaire. La pulpe, encore appelée endodonte, est un tissu conjonctif spécialisé, situé à l'intérieur de la dent, dans une cavité close, correspondant à la chambre pulpaire au niveau coronaire, et aux canaux radiculaires dans la partie apicale. L'organe pulpaire assure des fonctions biologiques essentielles, à savoir (i) la vascularisation et l'innervation de la dent, (ii) la surveillance immunitaire et la (iii) mise en œuvre de mécanismes de défense (réaction inflammatoire) face à des agressions bactériennes ou traumatiques. La carie dentaire est l'une des pathologies infectieuses les plus fréquentes de la cavité buccale. Elle se caractérise par la destruction de l'émail et de la dentine par des produits bactériens. Cette lésion tissulaire crée un accès à l'endodonte et génère une réaction inflammatoire (pulpite) réversible ou irréversible. Lorsque les capacités de défense de la pulpe sont dépassées, une nécrose du tissu pulpaire survient, qui induit à terme une infection de l'extrémité apicale de la racine dentaire [16]. Le but du traitement endodontique est de créer un accès suffisant à l'endodonte pour permettre l'élimination des débris organiques, la désinfection du système canalaire et son obturation (Figure 1). L'efficacité de la désinfection canalaire est un facteur pronostique de succès. En effet, la persistance de bactéries dans les canaux au moment de l'obturation définitive augmente le risque d'échec du traitement endodontique [32]. C'est cette persistance bactérienne qui conduira à l'infection endodontique.

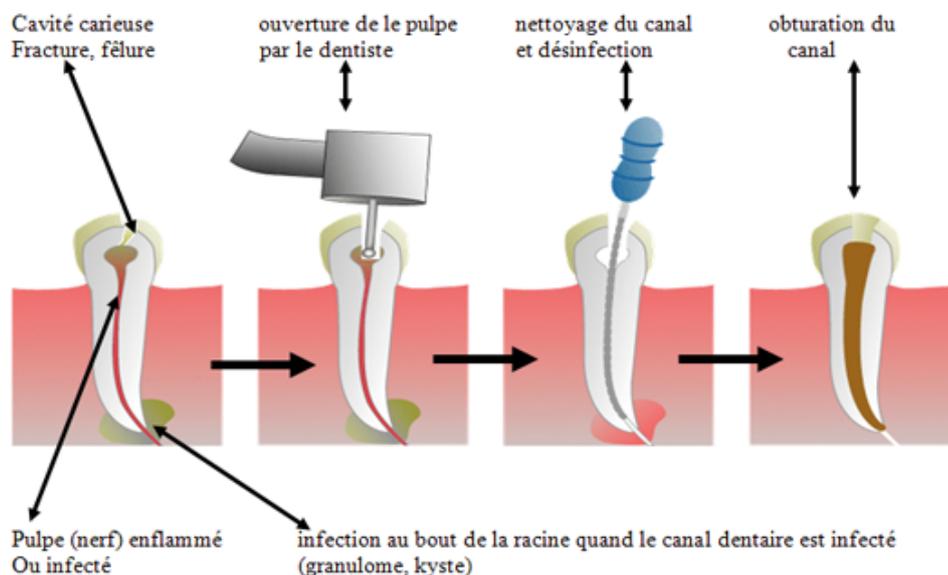


Figure 1 : Étapes du traitement endodontique [55]

Les infections canalaires sont polymicrobiennes. Les pathogènes associés aux infections endodontiques peuvent persister après le parage canalaire en raison de la complexité anatomique de l'endodonte, qui limite l'accès aux instruments et aux solutions antiseptiques utilisées en irrigation. La médication temporaire en inter-séance a donc tout son intérêt, afin de potentialiser la désinfection canalaire en libérant des principes actifs antimicrobiens durant plusieurs jours. L'hydroxyde de calcium (Ca(OH)_2) est largement utilisé en tant que médication temporaire en raison de son effet antibactérien puissant, lié à la libération d'ions hydroxydes [29]. Il est injecté dans le canal sous la forme d'une préparation extemporanée pâteuse, obtenue en mélangeant la poudre de Ca(OH)_2 avec de l'eau. La plupart des pathogènes associés aux infections endodontiques ne peuvent survivre dans un environnement fortement alcalin. Cependant, certaines bactéries telle que *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) semblent résistantes à l'action du Ca(OH)_2 [30,34,38,58]. Ces pathogènes seraient associés aux infections persistantes et aux échecs thérapeutiques [34,58].

Des antiseptiques tel que la chlorhexidine (CHX) présentent une activité antimicrobienne à large spectre contre les pathogènes présents dans l'endodonte [22]. Ils sont notamment utilisés comme irrigants lors du traitement canalaire. Cependant, le temps de contact limité de la solution d'irrigation dans l'endodonte ne permet pas une action antimicrobienne suffisante. La combinaison du Ca(OH)_2 avec la CHX a été proposée pour étendre le spectre antimicrobien de cette préparation. Les résultats rapportés dans la littérature sont hétérogènes en ce qui concerne l'intérêt de ce mélange. En effet, certaines études montrent une potentialisation de l'action antimicrobienne du Ca(OH)_2 par la CHX [5,14] tandis que d'autres ne retrouvent pas de différence [1,12,26,51].

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de la CHX sur l'efficacité du Ca(OH)_2 utilisé en thérapeutique endodontique en cas d'infections persistantes.

La première partie de cette thèse consiste en une analyse bibliographique des infections persistantes, du Ca(OH)_2 et de la CHX afin de comprendre l'origine de la proposition d'une combinaison du Ca(OH)_2 avec la CHX. Ensuite, cette thématique sera illustrée par un travail expérimental sur l'activité antimicrobienne de la pâte de Ca(OH)_2 + CHX. Enfin, les résultats obtenus seront confrontés aux données de la littérature.

3 Infections persistantes en endodontie

3.1 Voies de contamination de l'infection initiale

L'émail agit comme une barrière mécanique de protection en évitant l'infection microbienne vers le complexe dentino-pulpaire. Lorsque cette barrière est altérée ou détruite, de façon partielle ou totale, la pénétration des agents pathogènes et de leurs produits de dégradation peut induire une inflammation pulpaire, puis une nécrose avec une possible atteinte des structures périapicales. Au stade de la nécrose pulpaire, les bactéries ont déjà colonisé l'endodonte, entraînant une destruction des structures périapicales, appelée parodontite apicale ou LIPOE (Lésion inflammatoire périradiculaire d'origine endodontique). Les micro-organismes impliqués ont tendance à se loger dans différents secteurs anatomiques du système canalaire nécrosé, garantissant ainsi leur survie et l'expression de leurs facteurs de pathogénicité. Ils peuvent alors coloniser les tissus atteints. Les micro-organismes situés dans la zone apicale du canal sont bordés par des tissus périapicaux enflammés, une zone d'accumulation de polynucléaires neutrophiles et des couches de tissus épithéliaux situés au niveau du foramen apical. C'est le résultat du système de défense mis en place et entretenu par l'organisme pour limiter, voire empêcher, la dissémination de l'infection. Il existe ainsi un équilibre entre l'agent d'agression et l'hôte qui aboutit à l'apparition d'une inflammation de type chronique autour de la zone infectée [43].

Plusieurs voies d'accès peuvent être à l'origine du développement de ces lésions (Figure 2) [43].

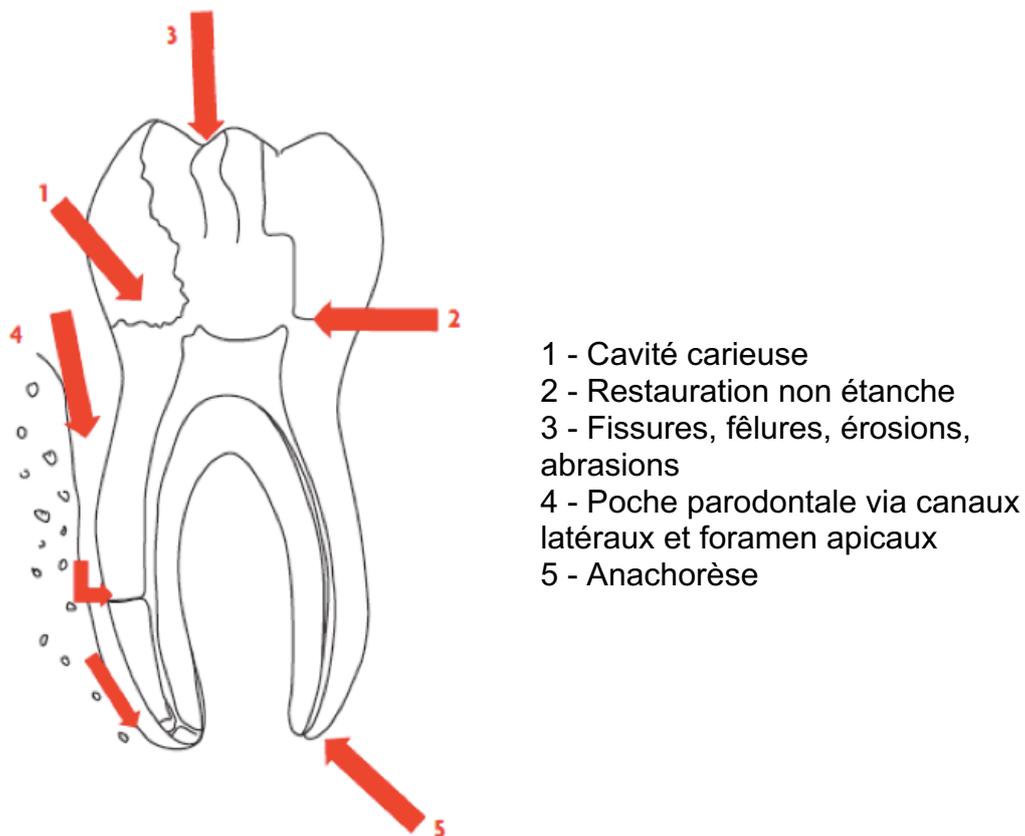


Figure 2 : Voies de contamination bactérienne de l'endodonte [43]

3.1.1 Liée à une exposition pulpaire

La voie la plus fréquente de pénétration des micro-organismes de la flore buccale est transcoronaire. Elle permet aux bactéries de la salive et de la plaque dentaire d'accéder directement à l'endodonte à travers les tubulis dentinaires. L'ouverture de ces tubulis dentinaires peut être provoquée par :

- une carie ou une fracture dentinaire à distance de la pulpe : suite au développement d'une lésion carieuse, les bactéries présentes vont pénétrer dans les tubules des couches dentinaires sous-jacentes et gagner ainsi l'endodonte,
- la mise à nu des tubulis après préparation des cavités, dans un milieu contaminé (salive),
- des restaurations défectueuses, non étanches,
- l'attrition due à la mastication ou l'abrasion,
- une dénudation radiculaire : suite à un surfaçage-curetage agressif par exemple,
- lors de la réalisation de la cavité d'accès dans des conditions septiques.

3.1.2 Liée à des anomalies dentaires

Des fêlures de l'émail ou de la dentine, des *dens in dente*, une absence de la jonction amélo-cémentaire au niveau du collet anatomique, exposant les tubulis au milieu salivaire, sont susceptibles de favoriser une agression bactérienne pulpaire. Cependant, l'infection bactérienne est en général limitée par le potentiel de défense pulpaire. Si la dent est indemne de toute lésion, d'autres voies de pénétration sont néanmoins possibles.

3.1.3 Liée une lésion du parodonte

Les bactéries présentes dans une poche parodontale peuvent théoriquement rejoindre l'endodonte par les canaux accessoires et/ou le foramen apical notamment en cas de nécrose pulpaire liée à cette maladie parodontale.

3.1.4 Par voie générale, via la circulation sanguine, par anachorèse

Il semblerait que les microorganismes issus d'une bactériémie transitoire soient attirés par le tissu périradiculaire. Cette bactériémie permettrait le passage de germes par l'orifice canalaire depuis l'extérieur vers l'intérieur de la cavité endodontique et leur développement. La pulpe, d'abord stérile, s'infecte secondairement par anachorèse, conduisant à sa nécrose.

Cependant, les bactéries étant généralement éliminées de la circulation sanguine et le fait que certaines espèces soient rarement retrouvées dans les dents traumatisées laisse émettre un doute sur la possibilité d'une contamination de la pulpe nécrosée par anachorèse.

Par ailleurs, l'infection endodontique d'une dent indemne de toute lésion est rare car le système de défense immunitaire est très performant. Il est exceptionnel que les bactéries survivent et atteignent la pulpe par voie sanguine au niveau parodontal. Pourtant, malgré leur intégrité macroscopique apparente, les dents peuvent présenter des microtraumatismes qui pourraient expliquer le passage des bactéries jusqu'à la pulpe. C'est pourquoi cette voie est toujours un sujet de controverse.

Lors du traitement endodontique, la zone apicale reste la plus difficile à instrumenter et à nettoyer. Idéalement, les procédures de traitement endodontique devraient stériliser le canal radiculaire, c'est à dire éliminer tous les micro-organismes vivants présents dans tout le système canalaire. Cependant, compte tenu de l'anatomie complexe du système, il est largement reconnu qu'avec les instruments, les substances et les techniques disponibles, atteindre cet objectif est utopique.

Ainsi, certaines bactéries peuvent persister dans le système endocanalaire. Quels sont les mécanismes et les conséquences de la persistance bactérienne ? Quelles actions bactériennes vont favoriser cette persistance ?

3.2 Causes et conséquences de la persistance bactérienne

La plupart des bactéries intracanales sont sensibles aux procédures de traitement standard. Néanmoins, certaines bactéries peuvent survivre aux procédures de traitement et leur présence au moment de l'obturation a été reconnue comme un facteur de risque de parodontite apicale post-traitement (Tableau 1) [32].

Les bactéries peuvent être détectées à différentes étapes du traitement, dans [46]:

- des échantillons post-instrumentation : collectés immédiatement après l'achèvement des procédures chimio-mécaniques,
- des échantillons post-médications : collectés immédiatement après le retrait des pansements en inter-séance,
- des échantillons de post-obturation : prélevés sur des canaux obturés présentant une LIPOE à un moment donné, plusieurs mois ou années après le traitement.

3.2.1 Causes

3.2.1.1 Persistance bactérienne après la procédure de désinfection endodontique et après la médication intracanal

Pour que les bactéries soient détectées dans les échantillons post-instrumentation et post-médications, elles doivent résister aux procédures de désinfection intracanal. Plusieurs stratégies peuvent permettre aux bactéries de résister au traitement. Les bactéries peuvent adhérer aux parois des canaux radiculaires, s'accumuler et former des colonies organisées en biofilms. Ceci peut jouer un rôle important dans la résistance des bactéries et donc favoriser la persistance bactérienne après des procédures antimicrobiennes intracanales. Lors des procédures chimio-mécaniques les bactéries situées dans des ramifications, des isthmes et d'autres anfractuosités sont susceptibles d'échapper [46] :

- aux actions des instruments à cause des limitations physiques,
- aux irrigants à cause des contraintes de temps.

La capacité de certaines bactéries à pénétrer dans les tubules dentinaires, parfois de manière très profonde, peut également leur permettre de se soustraire à l'action d'instruments et de substances utilisés au cours du traitement. Enfin, les médications antimicrobiennes utilisées en endodontie peuvent être inactivées par la dentine, les liquides tissulaires et les matières organiques [46].

3.2.1.2 Persistance bactérienne après l'obturation canalaire

Les bactéries qui ont résisté aux procédures intracanales et sont présentes dans le canal au stade de l'obturation peuvent influencer l'issue du traitement endodontique dans certaines conditions.

Elles ont été capables de supporter des périodes de pénurie d'éléments nutritifs en recherchant de faibles traces d'éléments nutritifs et en se mettant dans un état de dormance ou un état de faible activité métabolique. Ces stratégies leurs permettront de prospérer à nouveau lorsque la source de nutriments sera rétablie. Le fait que la très grande majorité des dents traitées présentant une LIPOE post-traitement héberge une infection intracanal indique que les micro-organismes peuvent en quelque sorte acquérir des nutriments dans les canaux radiculaires obturés. Les micro-organismes résiduels peuvent se nourrir en nutriments issus de la salive (infiltration coronaire dans le canal) ou à partir de fluides tissulaires périradiculaires et d'exsudats inflammatoires (infiltrations apicales ou

latérales au niveau des canaux). Même si la plupart des tissus nécrotiques de la pulpe sont retirés au cours des procédures chimio-mécaniques, les bactéries présentes peuvent également utiliser les restes de tissus nécrotiques comme source de nutriments. Ceux-ci peuvent être localisés dans les isthmes, les irrégularités, les tubules dentinaires et les canaux latéraux, qui sont très souvent insensibles aux instruments et aux irrigants. De plus, même dans le canal principal, certaines parois peuvent rester intactes après l'instrumentation. Bien que les restes de tissu pulpaire ne constituent qu'une source temporaire d'éléments nutritifs, ils peuvent maintenir la survie des bactéries avant qu'une source durable d'éléments nutritifs ne soit établie par des fuites apicales ou coronaires. Les signaux environnementaux peuvent réguler l'expression des gènes chez les bactéries, leur permettant de s'adapter aux conditions environnementales. Par exemple, plusieurs systèmes de régulation jouent un rôle essentiel dans la capacité des bactéries à résister à l'épuisement des nutriments. Ces systèmes sont sous le contrôle de gènes déterminés dont la transcription est activée dans des conditions de famine. Par exemple, en cas de pénurie en azote, l'activation du système de gènes Ntr (nitroréductase) permet aux bactéries qui ont besoin d'azote de nettoyer les plus petites traces d'ammoniac et d'en extraire l'azote qu'il contient. Sous de faibles concentrations de glucose, certaines bactéries peuvent activer le système répresseur catabolite, sous le contrôle des gènes Cya (adénylate cyclase) et Crp (catabolite repressor protein), qui induisent la synthèse d'enzymes pour l'utilisation de diverses autres sources de carbone organique. Dans des conditions de privation de phosphate déclenchée par de faibles concentrations de phosphate inorganique, les cellules activent les gènes nécessaires à l'utilisation de composés de phosphate organique et à la récupération de quantités infimes de phosphate inorganique. La production de protéines de stress constitue un autre moyen de faire face aux conditions environnementales changeantes. L'exposition à des stress environnementaux peut affecter la survie des bactéries et induire l'accumulation de protéines endommagées ou dénaturées. En réponse, les bactéries peuvent induire ou accélérer la synthèse de protéines spécifiques appelées protéines de stress, y compris les protéines de choc thermique. Ce sont des familles de protéines hautement conservées dont le rôle principal est de permettre aux micro-organismes de survivre dans des conditions stressantes. Les protéines de choc thermique agissent en tant que chaperons moléculaires lors de l'assemblage et du repliement des protéines et en tant que protéases lorsque des protéines endommagées ou toxiques doivent être dégradées. Plusieurs fonctions pathologiques ont été associées à ces protéines, notamment une cytotoxicité pouvant contribuer à la destruction des tissus [46].

D'autre part, les bactéries peuvent persister lorsqu'elles résistent aux perturbations induites par le traitement dans l'écologie de la communauté bactérienne ainsi qu'à la désorganisation des structures de protection du biofilm. De plus, il est nécessaire pour les bactéries d'atteindre une charge maximale pour infliger des dommages à l'hôte. Cela implique également de posséder des attributs de virulence qui s'expriment dans un environnement modifié pouvant atteindre des concentrations suffisantes pour induire directement ou indirectement des lésions des tissus périradiculaires [46].

Enfin, un accès illimité aux tissus périradiculaires par des foramens ou des communications apicales / latérales influence l'issue du traitement en faveur de la persistance bactérienne [46].

Ainsi, les principales causes de la persistance bactérienne sont liées à la présence des bactéries pendant le traitement ou à leur développement à la suite d'un traitement endodontique.

Tableau 1 : Les bactéries face à un traitement inadéquat [46]

Que fait le traitement ?		Que doivent faire les bactéries pour survivre ?	
résistance aux procédures de désinfection intracanalaires	action mécanique	écoulement et reflux des irrigants	- former des structures de biofilm adhérents fermement aux parois du canal, - coloniser des zones éloignées du canal principal (isthme, ramifications et tubules dentinaires).
		élimination par des instruments	- coloniser des zones éloignées du canal principal (isthme, ramifications et tubules dentinaires).
	action chimique	irrigation	- coloniser des zones éloignées du canal principal (isthme, ramifications et tubules dentinaires), - être protégé par les restes de tissus, la dentine, le sérum ou les cellules mortes, qui peuvent avoir la capacité d'inactiver ou de réduire l'efficacité des agents antimicrobiens, - être intrinsèquement résistant à l'agent antimicrobien, - former des structures de biofilm entourées d'une matrice de polysaccharide protectrice.
		médicament inter-séance	- être protégé par les restes de tissu, la dentine, le sérum ou les cellules mortes, qui peuvent avoir la capacité d'inactiver ou de réduire l'efficacité des agents antimicrobiens, - être intrinsèquement résistant à l'agent antimicrobien, - former des structures de biofilm entourées d'une matrice de polysaccharide protectrice.
adaptation au nouvel environnement	effet écologique	mise à mort d'espèces clés	- s'adapter au nouvel environnement, activer les gènes de survie et les voies métaboliques alternatives, - former de nouvelles associations bactériennes.
		privation de nutriments	- s'adapter au nouvel environnement, activer les gènes de survie et les voies métaboliques alternatives, - entrer dans un état viable mais non cultivable, - être situés dans des zones où les sources de nutriments étaient relativement peu affectées (partie très apicale du canal près du foramen, ramifications).

3.2.2 Conséquences de la persistance bactérienne

Les bactéries participant à des infections persistantes peuvent être identifiées comme celles présentes dans le canal au moment de l'obturation, bien que de nombreuses espèces trouvées n'aient pas suffisamment de temps pour établir une infection réelle et périssent après l'obturation. Cependant, celles qui parviennent à résister peuvent établir une infection persistante mettant en péril les résultats du traitement. La conséquence de cette infection est la persistance ou le développement d'une LIPOE [46]. Les bactéries à Gram positif sont plus communément isolées. Cependant, il est intéressant de déterminer quelles espèces spécifiques persistent après les procédures de traitement peuvent influencer les résultats et être considérées comme facteur de risque.

Pour persister, les bactéries doivent résister aux procédures de traitement chimio-mécaniques et doivent s'adapter à un environnement radicalement différent après obturation. Certaines bactéries pourraient avoir de meilleures capacités d'adaptations à ces nouvelles conditions. Quelles bactéries seraient impliquées dans le développement de ces infections persistantes ?

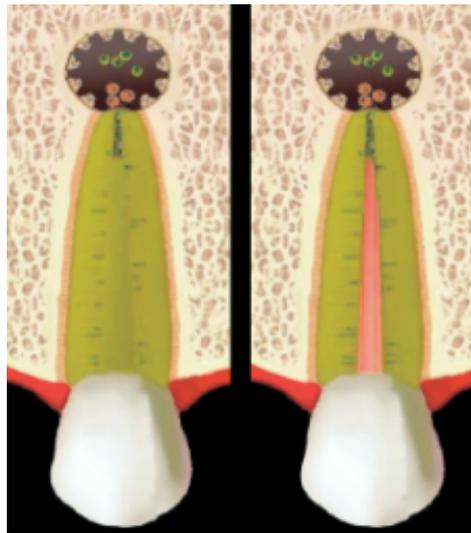
3.3 Bactéries impliquées

Les bactéries retrouvées au niveau de dents obturées présentant une LIPOE peuvent provenir d'un précédent traitement (infection persistante) ou sont une conséquence d'une réinfection (infection secondaire).

Les études portant sur les bactéries qui persistent dans les canaux radiculaires après des procédures chimio-mécaniques ou des médications intracanalaires ont permis de révéler les espèces susceptibles d'influencer le résultat du traitement [5,12,14,26,38,51].

Théoriquement, les bactéries détectées au stade de l'obturation mais absentes au moment du retraitement ne sont potentiellement pas en mesure de supporter les conditions présentes dans les canaux radiculaires obturés. De même, les bactéries trouvées uniquement au moment du retraitement, mais absentes au moment de l'obturation, peuvent correspondre à des bactéries responsables d'infections secondairement développées par un manque d'étanchéité coronaire. Ainsi, suivant toujours ce courant de pensée, les

bactéries trouvées lors de l'obturation et pendant le retraitement de dents dont le traitement initial a échoué peuvent être impliquées dans des infections persistantes (Figure 3).



Obturation		Retraitement
Bactérie		
Présente	+	Absente
Mort bactérienne		
Présente	+	Présente
Infection persistante		
Absente	+	Présente
Infection secondaire		

Figure 3 : Conséquences de la présence de bactéries à différents stades du traitement endodontique : Siqueira et al. (2008) ont interprété des données provenant d'études évaluant les espèces bactériennes présentes dans le canal au moment de l'obturation (échantillons post-instrumentation ou post-médication) ou du retraitement (échantillons post-traitement) [46]

Tableau 2 : Les espèces microbiennes présentes dans les canaux radiculaires au stade de l'obturation et en cas de retraitement [46]

Micro-organismes	Stade de l'obturation (références = études répertoriés)	Cas de retraitements (références = études répertoriés)
Gram-positive bacteria		
<i>Actinomyces naeslundii</i>	(11, 63, 64, 92, 93, 95)	(5, 102-104)
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	(11, 50, 63-65, 89, 90, 92, 93, 95)	(5, 102)
<i>Anaerococcus prevotii</i>	(51, 63, 64, 89, 90)	(5, 103, 105)
<i>Eggerthella lenta</i>	(11, 43, 89, 90)	(5, 102, 105)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(11, 44, 51, 65)	(2, 3, 5, 6, 9, 67, 102-104, 106, 107)
<i>Gemella morbillorum</i>	(43, 63, 64, 89, 90, 108)	(5, 102, 103, 105)
<i>Parvimonas micra</i>	(11, 43, 44, 47, 51, 63-65, 89, 90)	(2, 3, 5, 6, 102, 103, 109)
<i>Propionibacterium acnes</i>	(11, 47, 50, 51, 62, 64, 89, 92, 93)	(3, 5, 102, 103, 110)
<i>Propionibacterium propionicum</i>	(11, 43, 64, 92, 93)	(2, 3, 5, 102, 105)
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	(11, 43, 44, 47, 50, 51)	(2-4, 104)
<i>Streptococcus anginosus</i> group	(11, 43, 47, 51, 63, 90, 92, 108)	(3, 5, 102-105, 110)
<i>Streptococcus mitis</i>	(46, 50, 62-64, 108)	(3, 5, 102, 103, 105, 110)
Gram-negative bacteria		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	(11, 43, 44, 46, 51, 62, 65, 89)	(2, 3, 5, 102, 104, 110)
<i>Prevotella intermedia</i>	(43, 51, 65, 89, 90)	(2, 5, 6, 103, 107, 111)
Fungi (yeast)		
<i>Candida albicans</i>	(112)	(2-4, 105, 111, 113, 114)

Les études présentées dans la revue de Siqueira et al. (2008), portant sur le microbiote des dents obturées présentant une LIPOE, permettent de montrer l'association entre espèces et échec du traitement. En effet, Siqueira et al. (2008) ont répertorié, à l'aide d'un tableau (Tableau 2), les espèces microbiennes présentes dans les canaux radiculaires au stade de l'obturation et en cas de retraitement [46]. Ils montrent que les bactéries à Gram négatif, telles que *Porphyromonas gingivalis* ou encore *Tannerella forsythia*, qui sont des membres communs des infections primaires, sont généralement éliminées. Les exceptions incluent peut-être certains bâtonnets anaérobies tels que *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) ou *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*). Cependant, la plupart des articles étudiés par différents auteurs ont clairement montré que lorsque les bactéries résistent aux procédures de traitement, les bactéries à Gram positif anaérobies ou anaérobies facultatives, sont souvent détectées, telles que des streptocoques - Streptocoques anginosus (*S. anginosus*) -, des Actinomyces - Actinomyces naeslundii (*A. naeslundii*) -, des Propionibacterium, des Lactobacilles, des Entérocoques - *E. faecalis* -. Par ailleurs, *F. nucleatum* et *P. intermedia* qui sont des bactéries Gram négatif, font également parties des espèces les plus fréquemment prélevées (tableau 2, 3 et 4) [13,38].

Tableau 3 : Identification des espèces bactériennes persistantes après des procédures de désinfection intracanalaires [46]

Études	N	espèces	irrigant	échantillon	méthode	espèces les plus	bactéries
	par	cas		prélevé après	d'identi-	fréquentes	Gram +
					-cation	(nombre de cas)	
Byström & Sundqvist (115)	7/15†	4.3	Saline	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (3) <i>Parvimonas micra</i> (3) <i>Lactobacillus</i> spp. (3) <i>Bacteroides</i> spp. (3)	21/30 (70%)
Byström & Sundqvist (43)	8/20	2.8	0.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Fusobacterium</i> spp. (6) <i>Streptococcus</i> spp. (3) <i>Eubacterium brachy</i> (2) <i>Lactobacillus</i> spp. (2) <i>Porphyromonas gingivalis</i> (2) <i>Prevotella intermedia</i> (2)	10/22 (45%)
Byström & Sundqvist (43)	6/20	2.3	5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Streptococcus intermedius</i> (2) <i>Fusobacterium nucleatum</i> (2)	7/14 (50%)
Byström & Sundqvist (43)	3/20	2.7	5% NaOCl + EDTA	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Streptococcus</i> spp. (2)	6/8 (75%)
Sjogren & Sundqvist (116)	7/31†	1.7	0.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (4) <i>Parvimonas micra</i> (2)	8/12 (67%)
Sjogren et al. (44)	6/12	2.3	0.5% NaOCl	Chemomechanical preparation + 10 min of Ca(OH) ₂	Culture	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (3)	6/14 (43%)
Gomes et al. (90)	31	3.7	2.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Streptococcus anginosus</i> group (14) <i>Parvimonas micra</i> (10) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (4) <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> (5) <i>Fusobacterium nucleatum</i> (5) <i>Campylobacter rectus</i> (4) <i>Parvimonas micra</i> (4)	92/115 (80%)
Sjogren et al. (11)	22/55	2.3	0.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Actinomyces odontolyticus</i> (7) <i>Prevotella intermedia</i> (5) <i>Parvimonas micra</i> (5) <i>Eggerthella lenta</i> (3) <i>Prevotella oralis</i> (3)	28/45 (62%)
Peters et al. (89)	10/42	3.6	2% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Propionibacterium acnes</i> (3) <i>Parvimonas micra</i> (2) <i>Veillonella</i> spp. (2) <i>Bifidobacterium</i> spp. (2) <i>Capnocytophaga</i> spp. (2)	21/36 (58%)
Peters et al. (89)	15/21	1.5	2% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture	<i>Lactobacillus</i> spp. (40) <i>Streptococcus</i> spp. (37) <i>Enterococcus</i> spp. (26) <i>Propionibacterium</i> spp. (13)	14/23 (61%)
Chavez de Paz et al. (94)	74	2.4	0.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture	<i>Streptococcus</i> spp. (20) <i>Peptostreptococcus</i> spp. (17) <i>Prevotella</i> spp. (15) <i>Staphylococcus</i> spp. (7) <i>Streptococcus</i> spp. (6)	156/177 (88%)
Kvist et al. (117)	58/94	2.1	0.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Neisseria</i> spp. (4) <i>Staphylococcus</i> spp. (4) <i>Capnocytophaga</i> spp. (2) <i>Actinomyces</i> spp. (2)	84/119 (71%)
Kvist et al. (117)	16/43	1.9	0.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture	<i>Propionibacterium acnes</i> (2) <i>Propionibacterium propionicum</i> (2)	27/30 (90%)
Chu et al. (63)	11/35	2.3	0.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture	<i>Gemmella morbillorum</i> (2) <i>Clostridium argentinense</i> (2) <i>Gemmella morbillorum</i> (2)	15/25 (60%)
Vianna et al. (64)	8/24	1.4	2% CHX (gel)	Chemomechanical preparation	Culture	<i>Streptococcus mitis</i> (3)	9/11 (82%)
Vianna et al. (64)	5/8	2	2% CHX (gel)	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture	<i>Propionibacterium acnes</i> (2)	8/10 (80%)
Vianna et al. (64)	4/8	2.8	2% CHX (gel)	Intracanal medication–2% CHX (gel)	Culture	<i>Gemmella morbillorum</i> (2) <i>Clostridium argentinense</i> (2)	10/11 (91%)
Vianna et al. (64)	4/8	2.3	2% CHX (gel)	Intracanal medication–Ca(OH) ₂ /2% CHX	Culture	<i>Gemmella morbillorum</i> (2)	7/9 (78%)
Sakamoto et al. (62)	3‡	3.7	2.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	DNA sequencing	<i>Streptococcus mitis</i> (3)	8/11 (73%)
Sakamoto et al. (62)	3‡	5	2.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂ /CPMC	DNA sequencing	<i>Streptococcus mitis</i> (3) <i>Streptococcus sanguinis</i> (2) <i>Streptococcus</i> spp. (3)	10/15 (67%)
Siqueira et al. (46)	5/11	1.4	2.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture/DNA sequencing	<i>Streptococcus mitis</i> (3) <i>Streptococcus sanguinis</i> (2) <i>Streptococcus</i> spp. (3)	5/7 (71%)
Siqueira et al. (46)	2/11	1	2.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂	Culture/DNA sequencing	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (1) <i>Lactococcus garvieae</i> (1)	1/2 (50%)
Siqueira et al. (47)	6/11	1.8	2.5% NaOCl	Chemomechanical preparation	Culture/DNA sequencing	<i>Streptococcus oralis</i> (2)	10/11 (91%)
Siqueira et al. (47)	1/11	1	2.5% NaOCl	Intracanal medication–Ca(OH) ₂ /CPMC	Culture/DNA sequencing	<i>Propionibacterium acnes</i> (1)	1/1 (100%)

Tableau 4 : Données d'études sur les espèces bactériennes présentes en cas d'échecs de traitement [30]

Études	N	Méthode d'identification	Espèces les plus fréquentes
Hong et al (2013) (16)	8	Pyrosequencing	Fusobacterium, Porphyromonas, Prevotella
Zhang et al (2012) (22)	15	PCR	<i>P. micra</i> (9/15); <i>S. moorei</i> (7/15); <i>D. invisus</i> (5/15)
Wang et al (2012) (15)	23	DGGE/SEM	<i>Actinomyces</i> sp oral, <i>Propionibacterium</i> ; <i>Prevotella</i> spp oral; <i>Streptococcus</i> ; <i>P. endodontalis</i> ; Burkholderia
Roças and Siqueira Jr (2012) (14)	42	Reverse Checkerboard and RT PCR	<i>P. acnes</i> (52%); <i>F. nucleatum</i> (24%); <i>Streptococcus</i> spp (17%); <i>P. acidifaciens</i> (14%); <i>E. faecalis</i> , <i>T. forsythia</i> (12%)
Roças and Siqueira Jr (2010) (25)	7	Reverse Checkerboard and RT PCR	<i>Streptococcus</i> sp (86%); Bacteroidetes (47%); <i>E. faecalis</i> (43%); <i>O. uli</i> (43%); <i>P. stomatis</i> (43%)
Fujii et al (2009) (13)	31	16S ribosomal DNA sequence analysis	<i>P. acnes</i> ; <i>S. epidermidis</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>F. nucleatum</i>
Schirrmeister et al (2009) (12)	20	PCR and Culture	<i>S. moorei</i> (33%); <i>F. nucleatum</i> (33%)
Roças et al (2008) (26)	17	Reverse Checkerboard and PCR	<i>Streptococcus</i> sp (47%); <i>Lactobacillus</i> sp (35%); <i>D. invisus</i> (29%); <i>E. infirmum</i> (29%); <i>P. intermedia</i> (29%), <i>S. sputigena</i> (29%), <i>T. denticola</i> (29%)
Bloome et al (2008) (11)	20	PCR	<i>P. micros</i> (45%); <i>P. endodontalis</i> (20%); <i>T. forsythia</i> (20%); <i>F. nucleatum</i> (20%)
Gomes et al (2008) (10)	45	PCR	<i>E. faecalis</i> (77,8%); <i>P. micros</i> (51,1%); <i>P. gingivalis</i> (35,6%); <i>F. alocis</i> (26,7%)
Fouad et al (2005) (9)	37	PCR	<i>Entreococcus</i> spp (8%); <i>E. faecalis</i> (22%)
Roças et al (2004) (17)	14	PCR	<i>E. faecalis</i> (64%); <i>Streptococcus</i> spp (21%); <i>T. forsythia</i> (14%)
Roças et al (2004) (29)	30	Nested PCR	<i>E. faecalis</i> (67%)
Siqueira Jr and Roças (2004) (30)	22	PCR	<i>E. faecalis</i> (17/22); <i>P. alactolyticus</i> (12/22); <i>P. propionicum</i> (11/22); <i>F. alocis</i> (10/22); <i>D. pneumosintes</i> (10/22)
Hancock et al (2001) (8)	54	Culture	<i>E. faecalis</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Actinomyces</i> , and <i>Streptococcus</i>
Cheung et al (2001) (28)	18	Culture	<i>Streptococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> spp, staphylococci
Molander et al (1998) (7)	100	Culture	Facultative anaerobic (69%), <i>Enterococcus</i> spp (78%)

Ainsi, un grand nombre d'espèces a été identifié. Ceci est en accord avec le caractère non spécifique de l'étiologie de la LIPOE et suggère apparemment que la persistance ou l'émergence d'une LIPOE après traitement dépend davantage du nombre d'espèces restant dans le canal que d'espèces bactériennes spécifiques. Cependant, certaines espèces sont souvent retrouvées en cas d'échecs de traitement telles que *E. faecalis* ou encore *Candida albicans* (*C. albicans*) [12,26,34,40,51,58,59].

E. faecalis a fait l'objet de nombreuses recherches. Des études ont montré que cette bactérie était l'espèce la plus répandue parmi les dents traitées présentant une pathologie persistante [2,34,35,46,59]. Sa présence pourrait être interprétée comme étant un facteur favorisant le risque de persistance de l'infection. En effet, ce microorganisme peut coloniser les canaux radiculaires en monoinfection et vivre sans utiliser les nutriments d'autres bactéries. Cela est sans doute essentiel pour son établissement dans des canaux obturés. *E. faecalis* affamé forme des biofilms dans un environnement hostile ce qui le rend plus résistant à l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 5,25% que des cellules stationnaires. Sa capacité à envahir les tubules dentinaires et à adhérer au collagène en présence de sérum humain pourrait être un autre facteur favorisant permettant sa grande viabilité [58]. De plus,

cette bactérie aurait la capacité de survivre dans des environnements pauvres en nutriments et de prospérer lorsque la source de nutriments est rétablie. Ainsi, elle pourrait entrer dans un état viable mais non cultivable [59]. Ce type de bactérie perd sa capacité à se développer dans les milieux de culture mais conserve sa viabilité et son pouvoir pathogène. Elle est parfois capable de reprendre la division lorsque des conditions environnementales favorables sont rétablies. Dans l'étude de Sedgley et al. (2005), lorsqu'elle a été inoculée dans les canaux, cette bactérie a conservé sa viabilité pendant 12 mois sans apport d'éléments nutritifs supplémentaires [40]. Plusieurs systèmes de régulation lui permettent de résister face à l'épuisement des nutriments. Ainsi, cette bactérie, viable, ensevelie au moment de l'obturation, peut fournir un nid bactérien à long terme pour une infection ultérieure.

Des champignons sont parfois retrouvés dans les infections primaires mais ils semblent se développer plus souvent dans des cas d'échecs de traitement endodontiques. *C. albicans* est de loin l'espèce fongique la plus souvent isolée des canaux infectés. L'incidence de la présence de cette bactérie est de 30-45% chez les adultes en bonne santé et à hauteur de 95% chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [29].

Ainsi les principales espèces bactériennes impliquées dans les infections persistantes sont *E. faecalis* et *C. albicans*, bien que d'autres bactéries de type streptococcus soient également présentes en nombre. Ces bactéries vont notamment s'organiser en biofilm. Comment ces bactéries qui ont réussi à persister dans le système canalaire agissent pour la création d'une LIPOE ?

3.4 Voies de signalisation pour la création de la LIPOE

La présence de bactéries au niveau de l'émail n'entraîne pas l'intervention des défenses de l'hôte [19]. En revanche la pulpe devient vulnérable face aux bactéries lorsqu'elles ont passé la jonction amélo-dentinaire. Les microorganismes vont migrer dans la zone du périapex dont l'activité métabolique entraîne une inflammation aiguë de la région apicale, la LIPOE.

Les LIPOE sont le résultat d'une réaction inflammatoire que l'on peut définir comme un combat entre les agents agresseurs de la pulpe en situation intracanaulaire et les défenses de l'hôte dans le périapex (figure 4) [24]. La résistance de l'hôte est un facteur

important qui influe sur la pathogénèse de la maladie. La même combinaison d'espèces bactériennes au même nombre peut donner lieu à des réponses différentes selon les individus. Une destruction osseuse périapicale est créée à la fois par l'infection microbienne et par la réponse immunitaire de l'hôte [20].

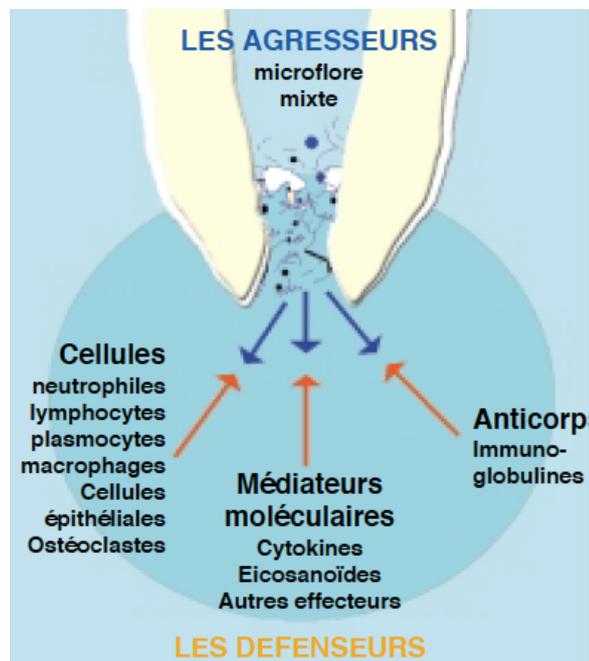


Figure 4 : La LIPOE, conflit dynamique entre infection bactérienne endocanalaire et réponse de l'hôte [24]

- Les facteurs d'agression :

Les bactéries ont un rôle primaire dans le développement de la LIPOE [24]. La flore endodontique génère une multitude d'effets délétères en fonction de la pathogénicité et de la virulence des espèces bactériennes :

- Les enzymes protéolytiques vont favoriser la pénétration des micro-organismes dans les tissus. Certaines enzymes vont détruire les complexes immuns et empêchent le recrutement des anticorps nécessaires à la défense cellulaire et humorale.
- Les exotoxines sont des molécules toxoïdes très antigéniques, telle la leucotaxine qui lyse les membranes des leucocytes.
- Les endotoxines, comme les lipopolysaccharides (LPS) ou l'acide lipotéichoïque (LTA), sont des macromolécules pyrétiques provenant en particulier de la désintégration des membranes des bactéries Gram négatif. Les LPS exercent des effets pathogènes directs ou indirects, impliquant la production de cytokines, de prostaglandines et d'autres médiateurs de

l'inflammation. Cependant, le LTA, présent dans les bactéries Gram positif, partage ses propriétés pathogènes avec le LPS [8]. Ainsi, avec le temps, une flore agressive, anaérobie et équipée contre les facteurs de défense (résistance à la phagocytose), colonise la portion apicale du canal et assiège les tissus vivants périapicaux, qui sont progressivement détruits [24].

- Les facteurs de défense de l'hôte vont lutter contre les facteurs agresseurs grâce aux cellules de défenses mais aussi via les médiateurs et effecteurs moléculaires produits par les cellules créant ainsi une réponse inflammatoire. La réaction inflammatoire va permettre la destruction ou l'inactivation des pathogènes.

- Les cellules :

Les cellules de défense constituent environ la moitié de la population cellulaire des LIPOE. L'afflux des polymorphonucléaires (PMNs) neutrophiles est très précoce et forme la première défense cellulaire périapicale provoquant un chimiotactisme et des lésions tissulaires [20]. Les lymphocytes T, les lymphocytes B, les cellules de Langerhans, les mastocytes et les macrophages participent à l'initiation et au développement des réactions immunitaires spécifiques et influencent également l'interaction avec d'autres cellules, l'épithélium et les microorganismes [20]. Le processus inflammatoire induit la prolifération et la différenciation des ostéoclastes sur la paroi alvéolaire adjacente au site qui entre en résorption. Il se peut que les cellules clastiques se dirigent contre le ciment et la dentine (en cas de destruction ligamentaire), ce qui formera une résorption radiculaire.

- Les médiateurs et effecteurs moléculaires vont influencer le développement de la LIPOE en créant l'inflammation, favorisant ainsi l'activité ostéoclastique. Le mécanisme principal de formation de la LIPOE met en jeu le système RANK/RANKL/OPG (Récepteur activateur pour le facteur nucléaire kappa B / ligand de RANK / ostéoprotégérine). Celui-ci est activé par les cytokines et les prostaglandines (PGs).

- Les dérivés de l'acide arachidonique sont les PGs et les leucotriènes. Les PGs sont des facteurs de vasodilatation et d'activation des ostéoclastes ce qui va amener à une destruction osseuse du péri-apex. Le leucotriène B4 qui fait partie de la grande famille des leucotriènes est un puissant agent chimiotactique pour les PMNs neutrophiles [24].

- Les cytokines regroupent de nombreux messagers intercellulaires tel que l'interleukine (IL), des interférons (IFN), des facteurs cytotoxiques (TGF [Transforming growth factor]) et des facteurs de croissance (TNF [Tumor necrosis factor] α et β). Avec les PGs, les cytokines jouent un rôle majeur dans la destruction des tissus apicaux en stimulant la résorption osseuse (activation et différenciation des ostéoclastes) et en inhibant l'apposition osseuse. Le système RANK/RANKL/OPG est un important régulateur du métabolisme osseux qui agit sur la différenciation et l'activité des ostéoclastes. RANKL est une cytokine qui joue le rôle de ligand du RANK et d'OPG. L'association RANK/RANKL entraîne la différenciation des ostéoclastes. Cependant l'OPG, en se liant à RANKL, bloque l'interaction RANK/RANKL, et bloque ainsi la maturation ostéoclastique, ce qui réduit la résorption osseuse. Les cytokines jouent également un rôle majeur dans l'activation et la prolifération des fibroblastes, la production de collagène et la néovascularisation [8,20].

Par ailleurs, d'autres molécules entretiennent l'inflammation et favorisent la formation de la LIPOE.

- Les chimiokines sont des protéines associées à la migration et à l'activation de leucocytes et de sélectines, ces dernières étant responsables de l'adhésion de cellules inflammatoires aux parois des vaisseaux [20].
- Les neuropeptides, comme la substance P, sont conçus comme des neurotransmetteurs de peptides. Un processus inflammatoire va conduire à la libération de neuropeptides par les neurones périphériques. Ceux-ci modifient de nombreux processus notamment la perméabilité vasculaire ou la vasodilatation du site [20].
- Les protéines de choc thermique jouent un rôle protecteur contre les conditions environnementales nocives et les agents pathogènes [24].
- Les miARN (micro acides ribonucléiques) sont responsables de la régulation de l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel. Ils seraient associés à des lésions inflammatoires impliquant la LIPOE [20].

- Les métalloprotéinases dégradent les matrices extracellulaires construites sur les réseaux de collagène et participent au développement de la lésion [24].
- Les anticorps contribuent au processus inflammatoire (mécanismes cytotoxiques) [24].

La mise en jeu de ces défenses spécifiques empêche la dissémination bactérienne mais, se faisant, contribue à la destruction des tissus périapicaux (Figure 5). Cette destruction est proportionnelle à la virulence bactérienne et au degré d'amplification de la réponse immunitaire [24]. La chronicité s'observe lorsque la fréquence des bactéries pathogènes est faible, ou lorsque les bactéries sont peu virulentes. La lésion peut rester à l'état latent, sans accroissement de taille, s'il y a équilibre entre flore et défense de l'hôte. Mais elle peut connaître des phases aiguës en cas de virulence augmentée des agents bactériens ou une immunité défailante. La résorption osseuse n'est pas continue, elle accompagne les épisodes aigus en partie responsables des manifestations cliniques [43].

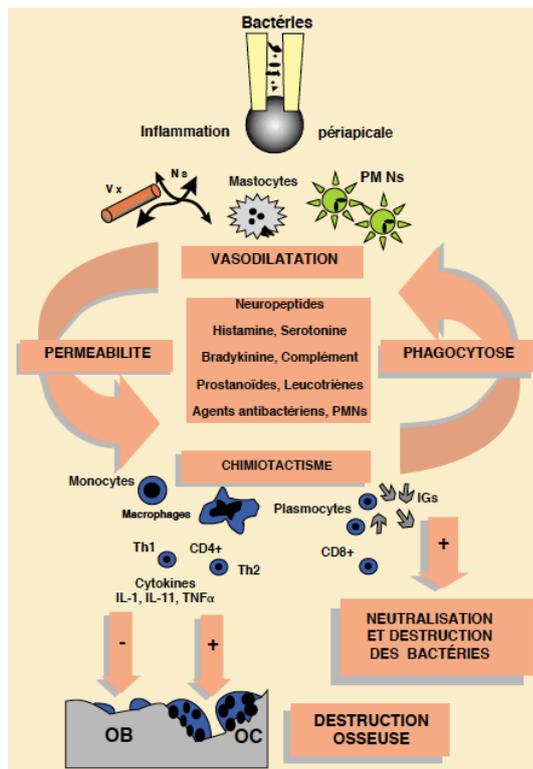


Figure 5 : Représentation schématique de la dynamique inflammatoire au cours des réactions périapicales [24]

3.5 Manifestations et solutions cliniques

Un des objectifs du traitement serait de réduire les populations de microorganismes à des niveaux qui ne sont pas détectés par les procédures de culture. Dans les cas de pulpes nécrosées ou de dents obturées présentant une LIPOE, les procédures endodontiques ne doivent pas seulement viser à prévenir l'introduction de nouveaux micro-organismes dans le système canalaire, mais doit aussi permettre l'élimination des micro-organismes présents [46].

Selon Theobald Smith (1934), une maladie infectieuse serait le résultat de l'interaction entre la virulence microbienne, la charge bactérienne et les défenses de l'hôte [49]. La LIPOE se développe lorsque les espèces bactériennes ont atteint une densité de population (charge) propice aux dommages tissulaires causés soit par la bactérie elle-même, soit par les mécanismes de défense de l'hôte en réponse à l'infection. Avant qu'un quorum de cellules bactériennes soit atteint dans le site infecté, aucun signe clinique ni symptôme de la maladie n'apparaît (Figure 6) [46].

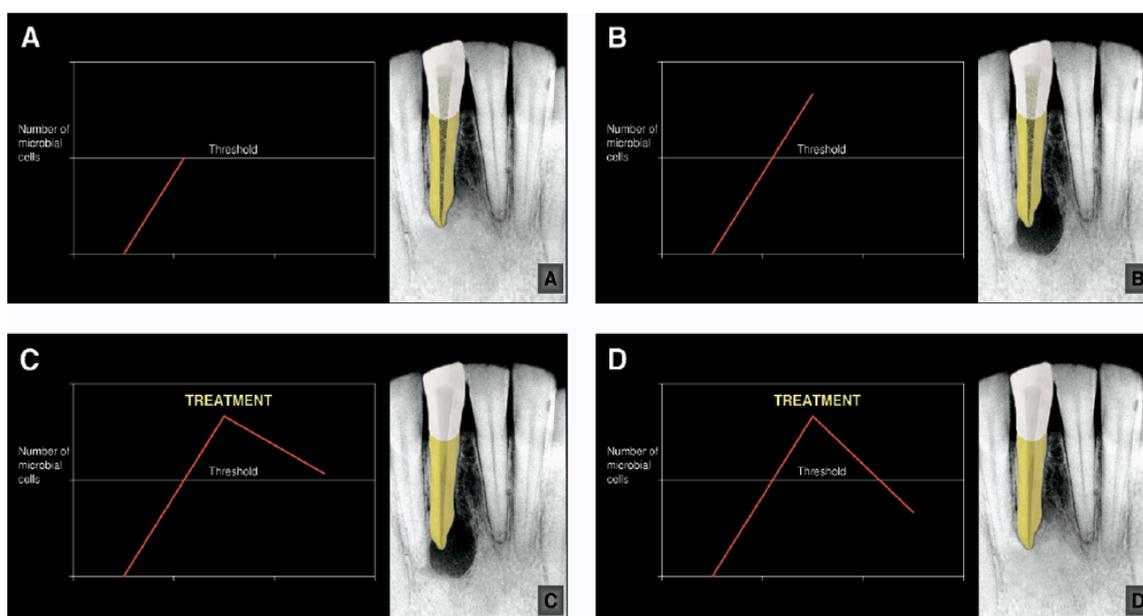


Figure 6 : Microbiologie du traitement endodontique des dents présentant une LIPOE [46]

[A] Les bactéries doivent atteindre une charge bactérienne suffisante pour provoquer une maladie. Avant que le seuil ne soit atteint, il n'y a ni signe clinique ni symptôme. [B] Lorsque les niveaux bactériens atteignent et dépassent ce seuil, la maladie infectieuse (LIPOE) est établie. [C] Si le traitement ne réussit pas à réduire les niveaux de bactéries en dessous de ce seuil, la LIPOE persistera. [D] Un traitement réussi ne stérilise pas nécessairement le canal, mais réduit la charge bactérienne à des niveaux sous-critiques compatibles avec la guérison.

Plus la virulence bactérienne est élevée, plus le nombre de cellules nécessaires pour provoquer la maladie est faible. Les infections endodontiques sont caractérisées par des populations mixtes d'environ 10 à 20 espèces avec des niveaux de virulence variables, il est pratiquement impossible de déterminer le seuil au-delà duquel le nombre de cellules est suffisant pour induire une maladie [46].

A la suite d'une infection endodontique, les réactions périapicales peuvent être aiguës ou chroniques. La LIPOE en est la première étape. Le granulome est la forme la plus fréquente d'une lésion passée à la chronicité et peut évoluer vers le kyste. La chronicité de la lésion témoigne de l'équilibre entre les bactéries et les défenses de l'hôte. L'évolution aiguë est le signe que cet équilibre est rompu et que les défenses sont débordées. Cela peut conduire à la cellulite, réaction inflammatoire diffuse, dans laquelle les défenses sont incapables de contenir l'infection localement.

Au stade initial aigu, plusieurs voies sont possibles [19] :

- la guérison spontanée, uniquement pour les inflammations aseptiques,
- l'amplification de l'inflammation et la formation d'un abcès primaire,
- l'abcédation et la fistulisation : abcès alvéolaire,
- l'évolution vers la chronicité : granulomes et kystes.

Détenues dans cette localisation anatomique privilégiée qu'est le système canalaire, les bactéries sont hors de portée des défenses de l'hôte et des antibiotiques administrés par voie systémique. Par conséquent, les infections endodontiques ne peuvent être traitées que par des interventions professionnelles faisant appel à des procédures chimiques et mécaniques. Les principales étapes du traitement endodontique impliquées dans le contrôle de l'infection sont représentées par la préparation chimio-mécanique, le traitement intracanalair et l'obturation. Concernant la préparation chimio-mécanique, elle est d'une importance capitale pour la désinfection du système endodontique. Les instruments et les irrigants agissent sur le canal principal, qui est la zone la plus volumineuse du système et par conséquent, abrite le plus grand nombre de cellules bactériennes. Le nettoyage du système canalaire est réalisé au moyen de l'action mécanique des instruments et de l'irrigation, ainsi que des effets antibactériens des irrigants. Bien que plusieurs irrigants aient été proposés au fil des années, le NaOCl reste le plus largement utilisé. Cependant, des études ont révélé qu'une préparation chimio-mécanique utilisant du NaOCl à différentes concentrations ne suffisait pas à rendre de manière prévisible les canaux exempts de

bactéries cultivables avec environ 40% à 60% des canaux toujours positifs en terme de présence bactérienne [46].

Concernant l'obturation, l'enfouissement de bactéries dans les canaux est l'un des objectifs principaux. L'argument selon lequel une obturation canalaire techniquement bien effectuée peut envelopper les bactéries dans le canal, leur interdisant l'accès aux tissus périradiculaires s'applique particulièrement aux bactéries qui restent sur les parois canales ou dans les tubules dentinaires. Les bactéries restant dans la partie apicale du canal principal, dans les deltas apicaux et dans les canaux latéraux pourraient entretenir des infections de longue date [46].

Une obturation inadéquate permet aux bactéries d'être en contact direct avec les tissus périradiculaires. Elles ont accès à une source durable de nutriments. Elles peuvent donc maintenir l'inflammation périradiculaire et nuire à la guérison. Ainsi, même si une obturation canalaire est bien effectuée, l'issue du traitement est compromise. Des études ont montré qu'un médicament intracanalair avec une pâte à base de Ca(OH)_2 pouvait être nécessaire pour compléter les effets antibactériens des procédures chimio-mécaniques et rendre de manière prévisible des canaux exempts de bactéries cultivables avant l'obturation [27,45,47]. Le Ca(OH)_2 est une médication intracanalair de choix en endodontie. Un large spectre de bactéries cité ci-dessus peut être responsable d'infections endodontiques et la majeure partie d'entre elles ne résiste pas à l'action de ce médicament [30,32,46].

4 L'hydroxyde de calcium

4.1 Introduction

Historiquement, la première utilisation du Ca(OH)_2 a été attribuée à Nygren pour le traitement de la « fistula dentalis » en 1838. Ce médicament a été indiqué pour favoriser la guérison dans de nombreuses situations cliniques. Le Ca(OH)_2 est devenu plus largement connu dans les années 1930 grâce aux travaux pionniers de Hermann, qui a démontré la formation d'un pont dentinaire sur une surface pulpaire exposée. En tant que base forte, l'utilisation de ce médicament pour la désinfection du système canalaire a été apportée pour améliorer le résultat du traitement. Les médicaments intracanaux tels que le Ca(OH)_2 sont utilisés pour réduire ou éliminer les bactéries situées dans le système canalaire et éviter leur prolifération entre les séances. Les premières publications démontrant qu'une cicatrisation pulpaire à l'aide du Ca(OH)_2 était possible sont apparues vers 1935-1940. Depuis, les indications cliniques de son utilisation ont été élargies et ce produit est maintenant considéré comme un médicament performant pour l'induction de tissus durs et la guérison des tissus pulpaires et périapicaux [17,44].

4.2 Caractéristiques et mode d'action

4.2.1 Caractéristiques

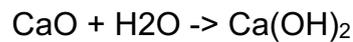
La roche d'origine permettant l'extraction du Ca(OH)_2 est le calcaire. Celle-ci est naturelle et sédimentaire, se formant par accumulation à partir de coquillages et squelettes des algues et animaux marins. Il est donc présent dans les mers ou en milieu lacustre. Son composé principal est le carbonate de calcium (CaCO_3). Celui-ci se forme grâce à la précipitation d'ions dissous selon la formule ci-dessous [17]:



La combustion du calcaire entre 900 et 1200°C provoque la réaction chimique suivante [17]:



L'oxyde de calcium (CaO) formé est appelé « chaux vive » et possède une forte capacité corrosive. Lorsque l'oxyde de calcium entre en contact avec de l'eau, la réaction suivante se produit avec la formation du Ca(OH)₂ [17] :



L'hydroxyde de calcium est une poudre blanche, inodore, de formule Ca(OH)₂ et d'une masse moléculaire de 74.08 g.mol⁻¹ [17]. Il a été démontré que le coefficient de dissociation du Ca(OH)₂ (0,17) contrôle la libération lente des ions calcium et hydroxyle. Il a une faible solubilité dans l'eau (environ 1,2 g/L à 25 ° C) qui diminue avec l'élévation de la température. Cette caractéristique clinique est utile dans la mesure où une période prolongée est nécessaire avant que le Ca(OH)₂ puisse se solubiliser au contact direct de fluides provenant des tissus [29]. Les principales actions du Ca(OH)₂ proviennent de la dissociation ionique de Ca²⁺ et OH⁻. L'action de ces ions sur les tissus et les bactéries génère un dépôt sur les tissus durs et l'effet antibactérien. Cependant, lorsque les ions Ca²⁺ entrent en contact avec le dioxyde de carbone (CO₂) ou les ions carbonates (CO₃) dans les tissus, il se forme du carbonate de calcium qui modifie le processus de minéralisation par la consommation des ions Ca²⁺ [17].

Selon Maisto (1975), Goldberg (1982) ou Leonardo et al. (1982), les médications contenant du Ca(OH)₂ devraient présenter les caractéristiques suivantes [17] :

- être composées principalement de Ca(OH)₂, qui peut être utilisé en association avec d'autres substances pour améliorer certaines propriétés physicochimiques telles que la radio-opacité, le débit et la consistance,
- être non étanche,
- être rendues solubles ou être résorbées dans les tissus, lentement ou rapidement, en fonction du véhicule et des autres composants,
- être préparées pour être utilisées au fauteuil ou disponibles sous forme de pâte en seringue préparée,
- être utilisées uniquement en tant que pansement temporaire et non comme matériau d'obturation définitif dans le système canalaire.

Pour résumer, le Ca(OH)₂ est une poudre blanche, inodore, classée chimiquement en tant que base forte et qui au contact de fluides aqueux, se dissocie en ions calcium et

hydroxyle. Il possède certaines propriétés comme sa biocompatibilité ainsi que son action antimicrobienne et minéralisante. D'où son intérêt dans le combat contre l'infection et dans la cicatrisation osseuse périapicale.

4.2.2 Mode d'action

4.2.2.1 Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ est liée à la libération d'ions hydroxydes dans un environnement aqueux. Les ions hydroxydes sont des radicaux libres hautement oxydants qui agissent sur plusieurs biomolécules. Les effets des ions hydroxydes sur les cellules bactériennes sont probablement dus à [29] :

- l'altération de la membrane cytoplasmique bactérienne,
- la dénaturation des protéines,
- l'altération de l'ADN (Acide désoxyribonucléique).

Bien que les preuves scientifiques suggèrent que ces trois mécanismes peuvent se produire, il est difficile d'établir quel est le principal mécanisme impliqué dans la mort cellulaire après exposition à cette base forte. Dans leur revue, Mohammadi et al. (2011) indique que Estrela et al. (1994) ont analysé l'effet du pH sur l'activité enzymatique de bactéries anaérobies et ont conclu que les ions hydroxydes du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ développaient leur mécanisme d'action dans la membrane cytoplasmique [29]. Cette membrane est responsable de fonctions essentielles telles que le métabolisme, la division cellulaire et la croissance. Elle participe aux dernières étapes de la formation de la paroi cellulaire, de la biosynthèse des lipides, du transport des électrons et de la phosphorylation oxydative. Les enzymes extracellulaires agissent sur les nutriments, les glucides, les protéines et les lipides qui, par hydrolyse, favorisent la digestion. Les enzymes intracellulaires situées dans la cellule favorisent l'activité respiratoire de la paroi cellulaire. Le gradient de pH de la membrane cytoplasmique est modifié par la concentration élevée en ions hydroxyle du $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Ces ions agissent sur les protéines de la membrane (dénaturation des protéines). Ainsi, le pH élevé du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ altère l'intégrité de la membrane cytoplasmique :

- par une lésion chimique des composants organiques et le transport de nutriments,
- ou par la destruction de phospholipides ou d'acides gras insaturés de la membrane cytoplasmique observée lors du processus de peroxydation, qui est une réaction

de saponification [29].

De nombreuses fonctions cellulaires peuvent être affectées par le pH, y compris les enzymes essentielles au métabolisme cellulaire.

4.2.2.2 Activité de minéralisation

L'activité minéralisante du Ca(OH)_2 est d'un grand intérêt en endodontie notamment pour les dents infectées présentant une LIPOE. En effet, le Ca(OH)_2 va favoriser la cicatrisation osseuse périapicale [29].

Le groupe hydroxyle rend l'environnement alcalin, ce qui favorise la réparation et la calcification active. Le pH alcalin induit la neutralisation de l'acide lactique provenant des ostéoclastes, empêchant ainsi la dissolution des composants minéraux de la dentine. Ce pH alcalin pourrait également activer les phosphatases alcalines qui jouent un rôle important dans la formation des tissus durs. La phosphatase alcaline est une enzyme hydrolytique qui agit par libération de la phosphatase inorganique à partir des esters du phosphate. Elle peut séparer les esters phosphoriques, libérant des ions phosphates, qui réagissent ensuite avec les ions calcium de la circulation sanguine pour former un précipité, le phosphate de calcium, dans la matrice organique. Ce précipité est l'unité moléculaire de l'hydroxyapatite qui est intimement lié au processus de minéralisation [29].

En résumé, l'activité antimicrobienne du Ca(OH)_2 est liée à la libération d'ions hydroxyles hautement réactifs dans un environnement aqueux, qui affecte principalement les membranes cytoplasmiques, les protéines et l'ADN. L'action minéralisante du Ca(OH)_2 est directement influencée par son pH élevé. Le pH alcalin neutralise non seulement l'acide lactique provenant des ostéoclastes, mais pourrait également activer les phosphatases alcalines, qui jouent un rôle important dans la formation des tissus durs. Ainsi, selon son application, le mode d'action du Ca(OH)_2 peut varier.

4.3 Applications dentaires dans le cadre des infections persistantes et ses limites

Le Ca(OH)_2 a différentes applications dans le domaine dentaire. Après un bref bilan de toutes ces applications, nous nous attarderons sur le Ca(OH)_2 en tant que médicament intracanalair, ce qui nous intéresse dans le cadre des infections persistantes.

4.3.1 Différentes applications

Le Ca(OH)_2 a été proposé en tant que ciment de scellement intracanalair. Cependant, il se dissout en Ca^{2+} et OH^- . En se dissolvant, il laisse des vides. Ce type de ciment n'est donc pas le « gold standard » en dentisterie actuellement. Le Ca(OH)_2 a été largement utilisé en tant matériau de choix pour le coiffage pulpaire. Un pont dentinaire se forme avec une pulpe saine sous des pansements contenant du Ca(OH)_2 . Cependant, avec l'arrivée des silicates de calcium, celui-ci n'est plus recommandé comme agent de coiffage pulpaire ou comme médicament de biopulpotomie. En effet, les principales propriétés des silicates de calcium, à savoir sa biocompatibilité et sa bioactivité, sont largement supérieures au Ca(OH)_2 [41]. Le Ca(OH)_2 est également utilisé dans la technique d'apexification. Lorsque la dent est obturée avec ce composé, il y a formation d'ostéodentine ce qui permettra la fermeture de l'extrémité apicale. Enfin, ce matériau est recommandé lors d'une destruction de l'extrémité apicale par sur-instrumentation. En effet, dans des cas de sur-instrumentation, un asséchement n'est pas toujours possible. Après asséchement du canal avec des pointes de papier, la pose de cette médication permettra d'avoir un canal sec à la prochaine séance. S'il ne l'est pas, une autre séance de médication sera nécessaire [31].

Ainsi le champs d'application du Ca(OH)_2 dans le domaine dentaire reste large. Il est toutefois principalement utilisé en tant que médication intracanalair, permettant ainsi de lutter contre les infections endocanalaies telles que les infections persistantes.

4.3.2 Médicament intracanalair

L'action du Ca(OH)_2 serait plus ou moins corrélée au nombre d'application de cette molécule dans le système canalaire. Ainsi, selon Sjögren et al. (1997), demander au patient d'effectuer plusieurs visites afin de réaliser plusieurs applications de ce composé conduirait

à de meilleurs résultats cliniques [48]. Au contraire, Weiger et al. (2000) montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre un traitement à une ou à plusieurs visites [57].

En endodontie, un médicament intracanalair est un agent antimicrobien, placé dans le système radicaire en inter-séance, pour diminuer le nombre de micro-organismes après la désinfection intracanalair et pour empêcher une réinfection. Ainsi, ils peuvent être utilisés pour tuer les bactéries, réduire l'inflammation, contrôler la résorption radicaire inflammatoire et prévenir la contamination entre les rendez-vous [29].

4.3.2.1 Activité anti-endotoxique

Le $\text{Ca}(\text{OH})_2$ inactive les endotoxines, telle que la leucotaxine, et apparaît actuellement comme le seul médicament efficace sur le plan clinique pour l'inactivation de celles-ci [29].

4.3.2.2 Effet tampon de la dentine sur le $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Haapasalo et al. (2000) ont montré dans une étude *in vitro* que le $\text{Ca}(\text{OH})_2$ était inefficace contre *E. faecalis* en présence de poudre de dentine alors qu'il l'était sans poudre de dentine [23]. La dentine, l'hydroxyapatite, les restes de tissu pulpaire nécrotique et l'exsudat inflammatoire diminuent le potentiel antibactérien du $\text{Ca}(\text{OH})_2$. C'est pourquoi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ est plus efficace *in vitro* que *in vivo* [29].

4.3.2.3 Synergie entre $\text{Ca}(\text{OH})_2$ et NaOCl

Le prétraitement des canaux avec du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ améliore la capacité de NaOCl à dissoudre les tissus. Ceci peut conférer un avantage au traitement endodontique à visites multiples [29].

4.3.2.4 Activité antifongique

C. albicans est l'espèce de champignon la plus souvent isolée de canaux infectés. *C. albicans* est majoritairement retrouvé en cas d'échecs de traitement endodontiques. Waltimo et al. (1999) montrent que la sensibilité des souches de *C. albicans* face au $\text{Ca}(\text{OH})_2$ est faible. En effet, une incubation de 16 h *in vitro* est nécessaire pour tuer 99,9%

des unités formant des colonies (UFC). Aucune différence de sensibilité entre les souches de *C. albicans* isolées à partir d'infections canalaires n'a été observée. Toutes les espèces *Candida* ont montré une résistance égale ou supérieure à *E. faecalis* en présence de Ca(OH)_2 . Cette étude indique que les espèces *Candida* sont résistantes au Ca(OH)_2 *in vitro*, ce qui peut expliquer l'isolement de levures à partir de cas de dents avec LIPOE [56]. Les bactéries sont d'autant plus résistantes qu'elles sont sous forme de biofilm *in vivo*. Étant donné que *C. albicans* survit dans une large gamme de valeurs de pH, l'alcalinité d'une solution saturée en Ca(OH)_2 peut n'avoir aucun effet sur *C. albicans*. De plus, les pâtes de Ca(OH)_2 peuvent fournir les ions Ca^{2+} nécessaires à la croissance et à la morphogénèse du genre *Candida*. Ces mécanismes pourraient expliquer la faible activité de Ca(OH)_2 contre *C. albicans* [29].

4.3.2.5 Activité contre les biofilms

Beaucoup d'agents microbiens ont été développés contre un seul micro-organisme. Cependant, l'organisation microbienne en biofilms est très complexe et les microorganismes au sein de ce biofilm peuvent être extrêmement résistants.

Sen et al. (1995) ont montré, grâce à l'observation par microscopie électronique à balayage et par microscopie confocale à laser, que malgré la mise en place d'un pansement intracanalair à base de Ca(OH)_2 , *E. faecalis* formait des biofilms dans les canaux [42]. Au contraire, Chai et al. (2007) ont rapporté que Ca(OH)_2 était efficace à 100% pour éliminer le biofilm de *E. faecalis* [9]. Brändle et al. (2008) ont montré les effets des conditions de croissance de *E. faecalis*, de *Streptococcus sobrinus*, de *C. albicans*, de *A. naeslundii* et de *F. nucleatum* face à un stress alcalin. Cette étude a déduit que les microorganismes planctoniques étaient les plus sensibles. Uniquement *E. faecalis* et *C. albicans* ont survécu en solution saturée en Ca(OH)_2 pendant 10 min. *C. albicans* a lui survécu pendant 100 min. D'après cette étude, le facteur d'amélioration principal de la résistance de *E. faecalis* et de *C. albicans* au Ca(OH)_2 est la capacité d'adhésion à la dentine. En revanche, la réponse de *C. albicans* au Ca(OH)_2 n'a pas été influencée par les conditions de croissance [7].

Bien que certaines études cliniques aient confirmé l'efficacité du Ca(OH)_2 en tant que médicament intracanalair, d'autres études ont mis en doute son efficacité, notamment sur certaines espèces spécifiques impliquées dans les infections persistantes, et indiqué l'utilisation de CHX en solution d'irrigation [21,50,54].

5 La chlorhexidine

5.1 Introduction

Plusieurs solutions d'irrigation ont été recommandées pour la désinfection du système canalaire telle que la CHX [22]. Tomás et al. (1947), ont réalisé une étude complexe visant à synthétiser de nouveaux agents antipaludiques qui a conduit au développement des polybiguanides [52]. Ces composés présentaient un potentiel antimicrobien significatif, en particulier le composé 10,040. C'est un détergent cationique appelé ultérieurement CHX. Le premier sel dérivé du composé 10,040 qui est arrivé sur le marché était le gluconate de CHX. Il a été enregistré en 1954 comme le premier antiseptique internationalement reconnu pour le nettoyage de la peau, des plaies et des muqueuses en raison de sa forte affinité pour ces zones, de son activité antibactérienne élevée et de sa faible toxicité pour les mammifères. En 1957, le large spectre antimicrobien de la CHX entraîna une extension de ses indications dans les domaines de l'ophtalmologie, de l'urologie, de la gynécologie et de l'otorhinolaryngologie. Bien que la CHX ait commencé à être utilisé pour contrôler la plaque bactérienne en 1959, son utilisation en dentaire ne s'est généralisée que dans les années 1970 grâce à Løe et Schiött. Dès lors, la CHX est largement utilisée en tant qu'antiseptique oral [22].

5.2 Caractéristiques et mode d'action

5.2.1 Caractéristiques

La CHX est un biguanide cationique. Sa formule moléculaire consiste en deux cycles symétriques 4-chlorophényle et deux groupes biguanides reliés par une chaîne centrale d'hexaméthylène. La CHX a pour formule $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ et correspond au 1,6dichlorophényl diguanidohexane [6].

La CHX est une substance presque incolore ou légèrement opalescente et peu ou non odorante. C'est une base forte qui est plus stable sous forme de sel. Le sel de CHX digluconate à 20% est le plus couramment utilisé. Sachant que la CHX est stable à un pH de 5 à 8, la plage optimale de pH de la CHX est de 5,5 à 7 [22].

Aucun effet indésirable n'a été cliniquement prouvé concernant l'utilisation de la CHX en tant que médicament d'irrigation ou intracanaire. Cependant, l'effet direct d'un test *in vitro* sur des cellules souches humaines de la papille apicale a montré l'absence de cellules

viables après son utilisation. Il existe un consensus sur le fait que toutes les substances d'irrigation, lorsqu'elles sont appliquées directement sur les cellules, auraient une certaine incidence sur la viabilité des cellules [22]. Les effets indésirables de la CHX sont généralement davantage liés à son application topique ou orale. L'utilisation de dentifrices et de rince-bouche en gel dentaire à base de CHX a été associée à une décoloration réversible de la langue, des dents et des restaurations en silicate ou en composite [54].

La CHX est une substance qui se présente sous forme de solution ou de gel. C'est une base forte possédant de nombreuses propriétés telles que son activité antimicrobienne à large spectre, sa rémanence, sa biocompatibilité ou encore sa capacité de lubrification [22].

5.2.2 Mode d'action

La CHX est principalement utilisée pour son activité antimicrobienne à large spectre. En effet, elle est efficace contre les bactéries à Gram positif et négatif (y compris *E. faecalis*), contre les bactéries anaérobies facultatives ou strictes, contre les champignons (en particulier *C. Albicans*), contre certains virus (virus respiratoires, herpès, cytomégalovirus, VIH). Cependant, elle est inactive contre les spores bactériens à température ambiante. Elle conserve son activité en présence de sang ou de matières organiques [22].

L'activité antimicrobienne de la CHX dépend du pH. La CHX se dissocie facilement au pH physiologique en libérant le composant CH (composant méthyle) chargé positivement. L'effet bactéricide de la CHX est dû à la liaison de la molécule cationique (composant CH⁺) à des complexes extra-microbiens et à des parois cellulaires microbiennes chargées négativement, altérant ainsi l'équilibre osmotique des cellules. À des concentrations suffisamment élevées, la CHX a un effet bactéricide dû à la précipitation et / ou à la coagulation du cytoplasme des cellules bactériennes, probablement causée par la réticulation des protéines. Ceci entraîne la mort cellulaire et laisse des débris cellulaires dans les canaux radiculaires, qui peuvent être éliminés par une irrigation vigoureuse avec de l'eau distillée [22].

L'efficacité de la CHX découle aussi de sa capacité à absorber les charges négatives de surface en bouche (dent, muqueuse), à se libérer lentement de ces sites de rétention et donc à maintenir une activité antimicrobienne prolongée pendant plusieurs heures. Ce processus est connu sous le nom de rémanence. Il a été constaté que l'utilisation de CHX

en tant que substance d'irrigation canalaire empêchant l'activité microbienne jusque 12 semaines [28].

5.3 Applications dentaires dans le cadre des infections persistantes et ses limites

La CHX est actuellement considérée comme la référence des antiseptiques oraux. Avec le fluorure, c'est l'agent préventif le plus largement étudié en dentisterie [22].

5.3.1 Utilisation générale

En plus de ses effets sur la plaque dentaire et la gingivite, la CHX est efficace dans la prévention et le traitement des caries et des infections suites aux interventions chirurgicales buccales, ainsi qu'au maintien de la santé des tissus péri-implantaires. La CHX réduit la charge bactérienne des aérosols et réduit la bactériémie après manipulation dentaire. Elle est également utilisée dans le traitement de la stomatite aphteuse. Cet agent est particulièrement indiquée dans certains groupes de population, tels que les personnes munies d'appareils orthodontiques, les personnes handicapées et les patients immunologiquement compromis. Elle conserve également son activité en présence de sang, de plaies et de brûlures. Il a également été démontré que l'immersion des prothèses dentaires dans la CHX était efficace pour réduire la colonisation par des espèces *Candida*. Elle peut également être utilisée pour la désinfection du champ opératoire [22]. Erdemir et al. (2004) ont rapporté que l'irrigation endodontique avec une solution de CHX augmentait considérablement la force de liaison à la dentine radiculaire permettant d'une part une meilleure étanchéité et d'autre part une meilleure adhésion de la reconstitution [13].

Elle a été utilisée en endodontie pour la désinfection des cônes de Gutta-Percha, en tant que substance d'irrigation [18,54] ou en tant que médicament intracanalair seul ou en combinaison avec du Ca(OH)_2 [21,50,54].

Les concentrations les plus utilisées en bains de bouche sont de 0,12% et 0,20%. En endodontie, la concentration à 2% peut être utilisée et peut être préparée en pharmacie sur ordonnance. La CHX se présente sous forme liquide ou en gel. En endodontie, le gel de CHX comprend une base de gel (1% de natrosol) et de la CHX digluconate. Le gel de

natrosol est un polymère biocompatible qui est soluble dans l'eau. Il pourra donc être facilement éliminé du canal avec une irrigation à l'eau distillée [22].

Ferraz et al. (2001) ont montré que le gel à 2% de CHX présentait plusieurs avantages par rapport à la solution à 2% de CHX, sans parler des propriétés antimicrobiennes, de la rémanence et de la biocompatibilité qui sont similaires. Le gel de CHX lubrifie les parois du canal radiculaire, ce qui réduit les frottements entre la lime et la surface de la dentine. Ceci facilite l'instrumentation et réduit les risques de rupture de l'instrument à l'intérieur du canal. De plus, en facilitant l'instrumentation, le gel de CHX améliore l'élimination des tissus organiques, ce qui compense son incapacité à les dissoudre. Un autre avantage du gel de CHX est la réduction de la formation de la *smear layer*, par rapport à la forme liquide. En effet, le gel de CHX maintient presque tous les tubules dentinaires ouverts car sa viscosité maintient les débris en suspension, réduisant ainsi la formation de la *smear layer* [18].

5.3.2 Action sur les biofilms

L'action de la CHX contre le biofilm est différente de son action contre les bactéries planctoniques. En effet, bien que la CHX soit efficace contre les biofilms bactériens, le NaOCl est la seule solution d'irrigation capable de perturber les biofilms [28].

5.3.3 Action sur les endotoxines

L'action de la CHX sur les endotoxines, tel que le LPS, est discutée. En effet, le Ca(OH)₂ apparaît actuellement comme le seul médicament efficace sur le plan clinique pour l'inactivation de ces endotoxines [29].

5.3.4 Irrigation

La CHX est recommandée en tant qu'irrigant canalaire en raison de son action antimicrobienne à large spectre, de sa rémanence et de sa faible toxicité. L'inconvénient majeur de la CHX est son incapacité à dissoudre des tissus [22].

La CHX a été recommandée comme alternative au NaOCl, en particulier dans les cas d'apex ouvert, de résorption radiculaire, d'élargissement du foramen et de perforation

radiculaire, en raison de sa biocompatibilité, ou dans les cas d'allergie liée aux produits d'éclaircissement [53]. Dans une étude sur des animaux, Lindskog et al. (1998) confirment cette recommandation en démontrant que les dents traitées avec de la CHX pendant 4 semaines avaient moins de réactions inflammatoires au niveau du parodonte et moins de résorption radiculaire [25].

En raison de son activité antimicrobienne à large spectre et de son incapacité à dissoudre les tissus organiques, un schéma d'irrigation a été proposé, dans lequel le NaOCl serait utilisé pendant l'instrumentation, suivi de l'EDTA, et la CHX serait utilisée comme irrigant final. L'association de NaOCl et de CHX a été préconisée pour améliorer leurs propriétés antimicrobiennes, et l'avantage de l'utilisation d'un rinçage final avec la CHX serait la rémanence. Cependant, outre l'aspect antimicrobien, l'association du NaOCl et de la CHX entraîne la formation d'un précipité brun orangé, ce qui induit la formation de *smear layer* chimique qui recouvre les tubules dentinaires et peut nuire à l'étanchéité de l'obturation. De plus, ce précipité change la couleur de la dent et est cytotoxique. L'association EDTA et CHX entraîne également la formation d'un précipité qui induirait aussi la formation de *smear layer* chimique. Il est donc important d'éliminer toutes les traces des substances utilisées à l'intérieur des canaux radiculaires afin d'éviter les interactions entre eux [22].

Afin de pallier ces interactions, Gomes et al. (2013) recommandent une irrigation de 1mL de CHX lors de la préparation chimiomécanique avant le passage de chaque lime. Après chaque instrumentation, une irrigation avec 5mL d'eau distillée serait nécessaire. Enfin, avant l'utilisation d'autres substances comme l'EDTA ou le NaOCl, un rinçage final avec 10mL d'eau distillée permettrait d'éliminer toutes traces de CHX [22].

5.3.5 CHX en tant que médicament intracanalair

L'activité antimicrobienne de la CHX a également été testée pour son utilisation en tant que médicament intracanalair seul ou en association avec d'autres substances. L'utilisation du gel de CHX en tant que médicament intracanalair peut être recommandé pendant une courte période (3 à 5 jours), en particulier en cas de canaux préparés qui ne pouvaient pas être obturés faute de temps. Il est également recommandé en cas d'exsudation, car il conserve son activité antimicrobienne en présence de sang et d'autres matières organiques [22]. Plutzer et al. (2018) montrent que le gel de CHX est capable d'éliminer 97% des bactéries après 24 et 48 heures d'exposition, ce qui le rend presque aussi efficace que

l'hydroxyde de calcium (99,9%) [35]. De plus, utilisée comme médicament intracanalair seul, la CHX est plus efficace que le Ca(OH)_2 contre certaines bactéries persistantes, comme *E. faecalis*, dans les tubules dentinaires [21]. Cependant, bien que la CHX ait un large spectre antimicrobien, seule, elle n'agit pas comme une barrière physique et ne présente pas de radio-opacité [22].

De ce fait, l'association de Ca(OH)_2 et de CHX pourrait permettre de conserver certains avantages du Ca(OH)_2 tout en augmentant l'activité antimicrobienne de la pâte de Ca(OH)_2 . Cependant, est-ce que l'ajout de CHX augmente réellement l'activité antimicrobienne de cette pâte ?

6 Étude de la combinaison hydroxyde de calcium et chlorhexidine

6.1 Introduction

Il semble que l'activité antimicrobienne de la CHX est réduite lorsqu'elle est combinée à d'autres substances comme par exemple le Ca(OH)_2 . Néanmoins, cette combinaison permettrait d'augmenter les propriétés antimicrobiennes du Ca(OH)_2 tout en maintenant ses caractéristiques biologiques, mécaniques et physiques. Les résultats rapportés dans la littérature sont hétérogènes en ce qui concerne l'intérêt de ce mélange. En effet, certaines études montrent une potentialisation de l'action antibactérienne du Ca(OH)_2 par la CHX [5,12,14] tandis que d'autres ne retrouvent pas de différence [1,26,51]. Nous faisons l'hypothèse que l'hétérogénéité des résultats pourrait être liée à la variabilité des souches étudiées, des tests utilisés ainsi qu'à des interactions possibles entre la CHX et le Ca(OH)_2 .

Dans le but de mieux comprendre l'influence de la CHX sur l'efficacité du Ca(OH)_2 utilisé en thérapeutique endodontique, un travail de recherche a été réalisé. L'objectif était d'étudier *in vitro* l'effet de la dose de CHX sur l'activité antimicrobienne de la pâte de Ca(OH)_2 + CHX sur différents pathogènes associés aux infections endodontiques.

6.2 Matériels et méthodes

6.2.1 Milieux réactifs et souches utilisées

Les pathogènes étudiés sont des bactéries Gram positifs anaérobies facultatives (*S. anginosus* D114-4, *E. faecalis* C159-6, *A. naeslundii* D129C4) et une levure (*C. albicans* ATCC 10231). Ils sont issus de collections de référence (*C. albicans* ATCC) ou de celles du laboratoire (isolées de prélèvements cliniques). Les souches sont cultivées dans le milieu Wilkins-West liquide (WWL), diluées dans le Ringer Cystéiné (RC) (Oxoid, Basingtoke, UK) et ensemencées sur des géloses Columbia cystéinées (CC) (Oxoid, Basingtoke, UK) ou Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid, Basingtoke, UK). La pureté des souches est contrôlée par coloration de Gram, analyse morphologique au microscope optique puis spectrométrie de masse MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics Wissembourg, France) selon les procédures habituelles du laboratoire.

6.2.2 Formulation de la pâte de Ca(OH)₂

Le Ca(OH)₂ se présente sous la forme d'une poudre blanche (hidroxido de calcio (DentaFlux, Madrid, Spain)). Le ratio liquide poudre qui permet d'obtenir une texture optimale de la pâte pour une injection intra-canalair a été déterminé par une étude préliminaire. Ce ratio (50:50) a été utilisé dans la suite de ce travail. Les solutions de CHX digluconate aux concentrations étudiées (0,5%, 1%, 2% et 4%) sont obtenues par dilution en série d'une solution stock à 20% (Evonik, Hanau, Germany) avec de l'eau distillée stérile (ED). La pâte de Ca(OH)₂ est obtenue en mélangeant la poudre et la solution de CHX correspondante (durée du mélange 45s, à température ambiante) sur une plaque de verre à l'aide d'une spatule à ciment.

6.2.3 Libération du principe actif et mesure du pH

La pâte de Ca(OH)₂ (50µL) est injectée au fond d'un tube Eppendorf® à l'aide d'une seringue Injekt® 1mL (B. Braun Medical, Boulogne Billancourt, France) et d'une aiguille du commerce fine-ject® (henke-sass wolf, Göttingen, Germany) et recouverte d'1mL d'eau. Le surnageant est prélevé une fois par jour pendant une semaine et le pH du liquide est mesuré à l'aide d'un pH-mètre (WTW PH 7110 inoLab®, Wellheim, Germany) préalablement étalonné. Le liquide est ensuite congelé à -80°C pour dosage ultérieur de la quantité de CHX libérée. L'expérimentation est réalisée en triplicata.

6.2.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMI et la CMB de la CHX pour les bactéries étudiées sont déterminées selon les protocoles standards (Clinical and Laboratory Standard Institute protocols CLSI M26-A) par micro-dilution en série dans des plaques de 24 puits (ClearLine®, 131020C, Brumath, France). Les souches sont repiquées 24h avant le test pour obtenir un inoculum dont la charge bactérienne est comprise entre 10⁴ et 10⁶ UFC/mL. Un gradient de concentrations croissantes de CHX (1 à 512 µg/mL) a été testé. Le milieu de culture (1600 µL de WWL) est déposé au fond du puits, le principe actif (200 µL de solution de CHX) est ensuite ajouté et le tout estensemencé avec 200 µL d'inoculum bactérien. La CMI est définie comme la plus faible concentration de principe actif pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu (absence de turbidité) après 24 à 48h de culture à 37°C. Pour déterminer

la CMB, le contenu des puits limpides (100 μ L) estensemencé sur une gélose CC. La CMB correspond à la plus faible concentration de principes actifs pour laquelle aucune colonie n'est visible après culture (24h à 37°C) ce qui indique une absence de bactéries viables dans 100 μ L de milieu de culture.

6.2.5 Test de diffusion

Quatre pâtes de Ca(OH)_2 préparées avec des solutions de CHX de concentrations connues (0,5%, 1%, 2% et 4% de CHX) ont été comparées à une pâte de Ca(OH)_2 seul. L'inoculum bactérien (volume 300 μ L ; 10^5 CFU/mL environ) est étalé à la surface de géloses CC (40 mL) coulées dans des boîtes de Petri carrées (12 x 12 cm). Sur chaque gélose, 5 puits (diamètre 6mm) sont réalisés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et remplis avec 50 μ L des formulations testées. Après 48 h d'incubation à 37°C le diamètre d'inhibition est mesuré. Afin de vérifier une possible interaction entre la CHX et le Ca(OH)_2 , des tests de diffusion sont également réalisés en utilisant les solutions de CHX seules (au lieu du mélange Ca(OH)_2 + CHX). Les tests sont réalisés en triplicata.

6.2.6 Test de Kill-Time

Le test de *Kill-Time* (Figure 7) permet d'étudier la cinétique de l'action antibactérienne de la formulation testée en effectuant des dénombrements bactériens successifs à différents temps d'incubation [10]. Quatre pâtes de Ca(OH)_2 préparées avec des solutions de CHX de concentrations connues (0,5%, 1%, 2% et 4% de CHX) ont été comparées à une pâte de Ca(OH)_2 seul. La veille du test, la formulation (1 mL) est injectée au fond d'un tube Falcon (volume 15 mL) recouverte de 9 mL de RC et pré-incubée à 37°C. Après 24h, le surnageant est remplacé par 8 mL de milieu de culture WWL et le tube estensemencé avec 1 mL d'inoculum bactérien dilué à la concentration de 10^5 CFU/mL environ. Les tubes sont incubés en anaérobiose ou en aérobie selon les souches, à 37°C sous agitation (60 rpm). Des prélèvements effectués à T0, 2h, 4h, 6h et 24h sont dilués puisensemencés sur des géloses CC ou MHA, incubés pendant 24-48h à 37°C puis dénombrés afin d'estimer la charge bactérienne aux temps définis. La fenêtre de lecture est comprise entre 15 et 150 colonies.

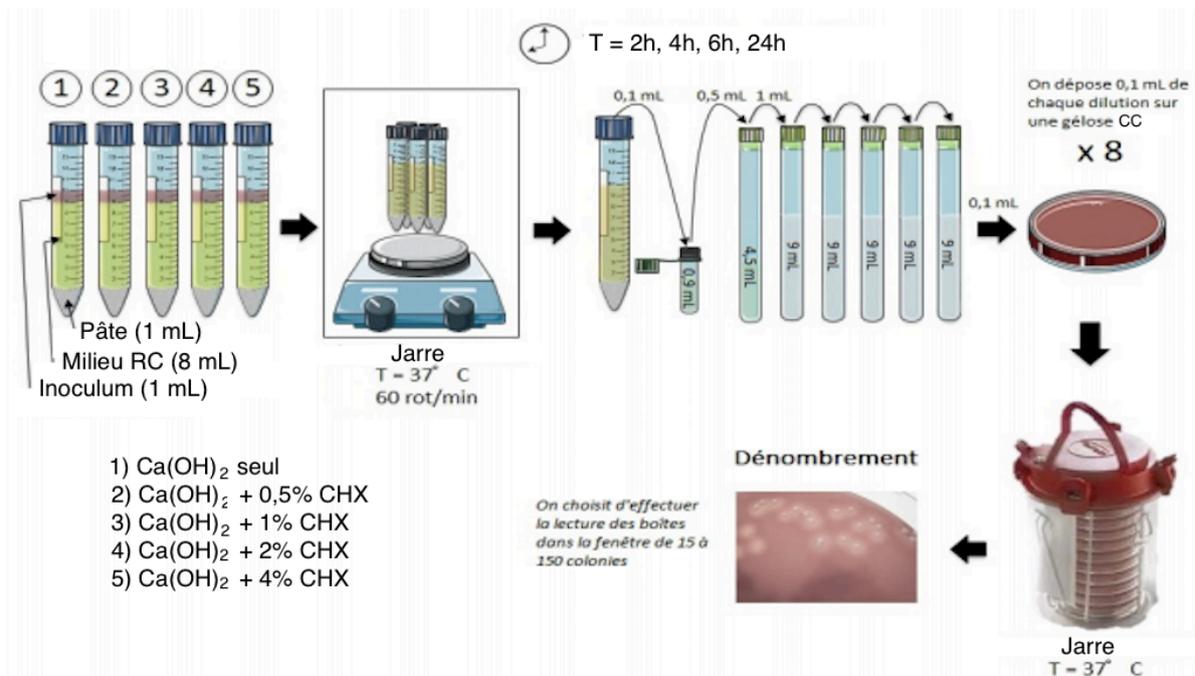


Figure 7 : Schéma protocole du Test Kill-Time. Dénombrements à différents temps (T_0 , 2, 4, 6, 24h) [10]

6.3 Résultats

6.3.1 Mesure du pH

La figure 8 représente les valeurs de pH mesurées quotidiennement dans le surnageant. Le milieu est fortement alcalinisé par le $\text{Ca}(\text{OH})_2$ et le pH est stable indépendamment de l'ajout de CHX.

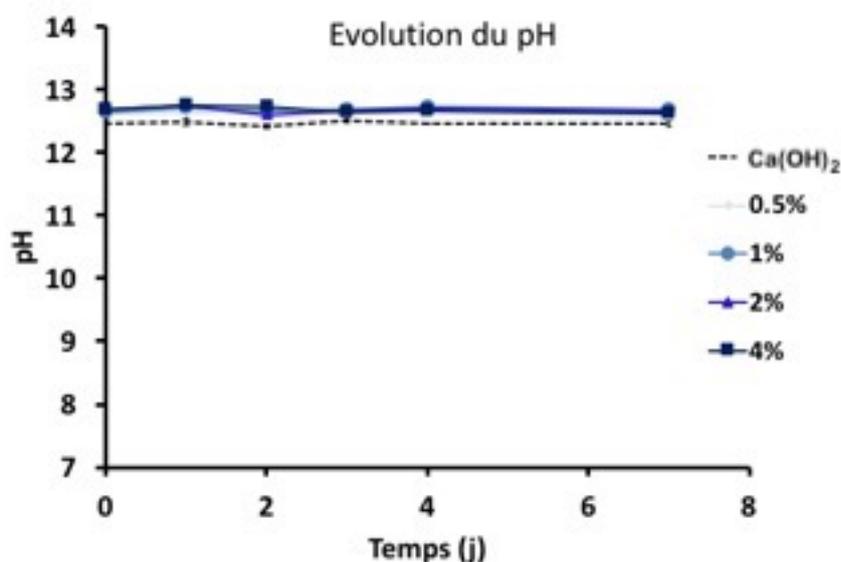


Figure 8 : Évolution du pH du milieu de libération de la pâte de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ avec ou sans CHX

6.3.2 Identification des souches

L'observation de prélèvements des souches testées au microscope optique (grossissement 1000x) après coloration de Gram montre des phénotypes variés (Figure 9) :

- *S. anginosus* est un cocci Gram positif ovalaire, de petite taille, organisé en chaînettes longues,
- *E. faecalis* est un cocci Gram positif ovalaire, de petite taille, organisé en chaînettes courtes,
- *C. albicans* est un bâtonnet filiforme Gram positif de plus grande taille qu'une bactérie,
- *A. naeslundii* est un bacille Gram positif assez irrégulier et enchevêtré.

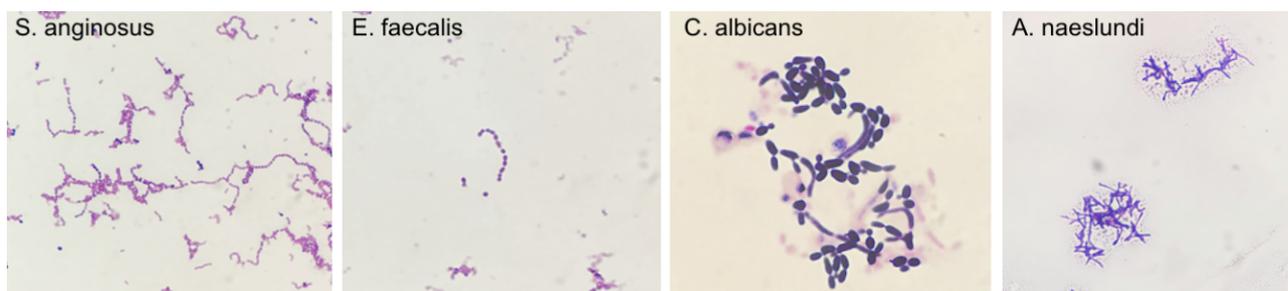


Figure 9 : Identification des souches, analyse morphologique au microscope optique après coloration de Gram (grossissement 1000x)

6.3.3 CMI/CMB

La CHX est bactériostatique et bactéricide à faible concentration (2 - 16 mg/L) sur tous les pathogènes étudiés (Tableau 5):

Tableau 5 : Susceptibilité des souches étudiées à la CHX, CMI et CMB

	<i>S. anginosus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. naeslundii</i>
MIC (mg/L)	4	8	2	8
MBC (mg/L)	8	16	4	8

6.3.4 Test de diffusion

Les diamètres d'inhibition mesurés pour les quatre conditions CHX + Ca(OH)₂ et le

Ca(OH)₂ seul varie en fonction des souches et de la dose de CHX (Figure 10). Pour *S. anginosus* et *A. naeslundii* la zone d'inhibition s'agrandit lorsque la dose de CHX augmente. Les diamètres mesurés varient entre 7,5 ± 1,5 mm (Ca(OH)₂ seul) et 22,33 ± 0,44 mm (Ca(OH)₂ + 4% CHX). Pour *E. faecalis* et *C. albicans*, il n'y a pas de différence significative du diamètre de la zone d'inhibition avec ou sans CHX (Figure 11). Les diamètres moyens mesurés sont respectivement de 13 et 20 mm environ.

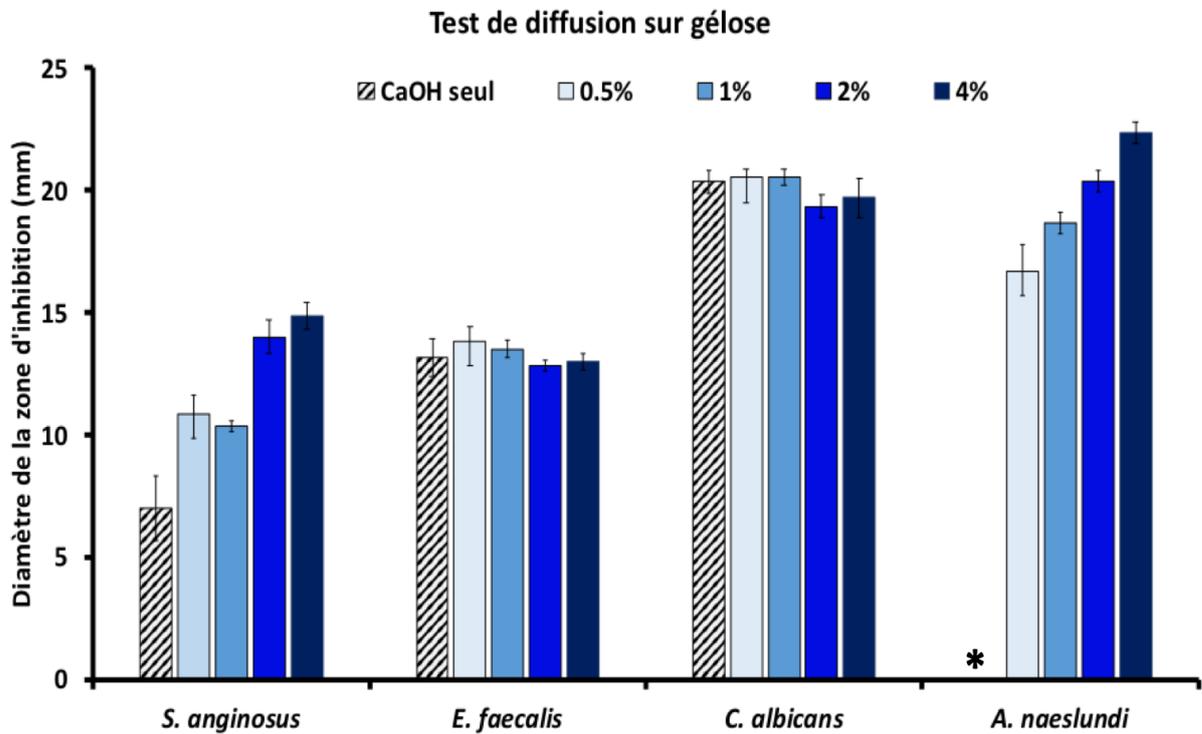


Figure 10 : Test de diffusion (agar-well diffusion) sur gélose Columbia cystéinée, diamètres d'inhibition mesurés. Pour *A. naeslundii* aucune zone d'inhibition n'est observée avec le Ca(OH)₂ seul (*)

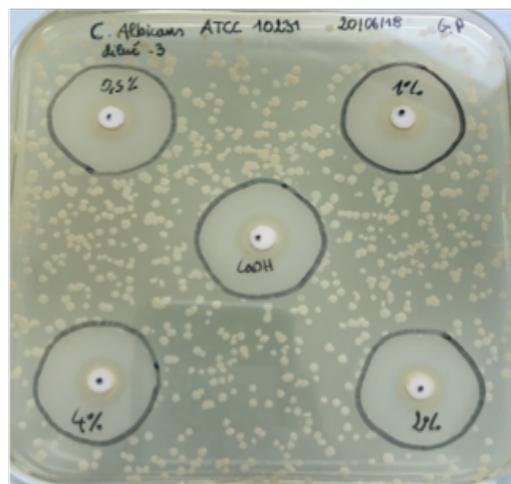


Figure 11 : Illustration des zones d'inhibition observées pour les préparations de Ca(OH)₂ + CHX. Pour *C. albicans* il n'y a pas de différence de taille de la zone d'inhibition avec ou sans CHX.

Afin de vérifier une possible interaction entre la CHX et le $\text{Ca}(\text{OH})_2$, des tests de diffusion complémentaires ont été réalisés sur *E. faecalis* et *C. albicans* en utilisant les solutions de CHX seules aux mêmes concentrations, au lieu du mélange $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX (Figure 12). Pour les deux bactéries, les diamètres d'inhibition mesurés avec les solutions de CHX sont supérieurs à ceux obtenus avec le mélange $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX (par exemple 21 à 24 mm avec CHX contre 12 à 14 mm avec $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX pour *E. faecalis*). La variation de la concentration de la solution de CHX ne fait pas varier significativement le diamètre d'inhibition pour ces 2 bactéries (Figure 13).

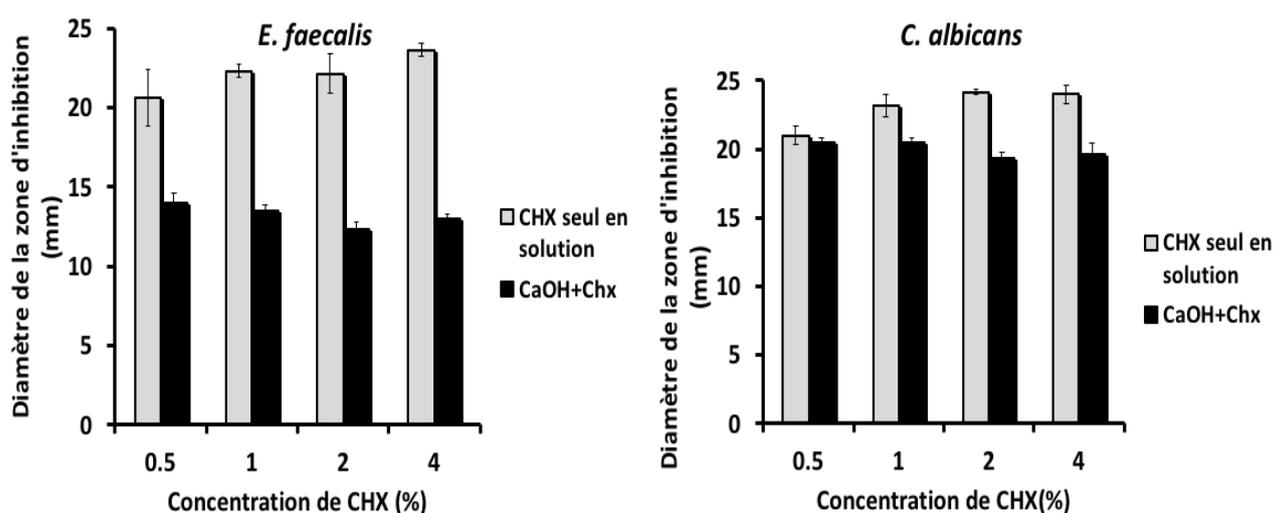


Figure 12 : Test de diffusion (agar-well diffusion) sur gélose Columbia, diamètres d'inhibition pour *E. faecalis* et *C. albicans* avec une CHX seule ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX



Figure 13 : Illustration des zones d'inhibition observées pour les solutions de CHX seule pour *C. albicans*. La concentration de CHX modifie peu la taille de la zone d'inhibition

6.3.5 Kill-Time

La figure 14 représente la cinétique de l'effet antimicrobien du Ca(OH)_2 seul ou du mélange Ca(OH)_2 + CHX à différentes concentrations sur 4 pathogènes de la flore endodontique. Le Ca(OH)_2 a un effet bactéricide lent sur *C. albicans* et *A. naeslundii* (2 Log de réduction de la charge bactérienne initiale au bout de 24h) tandis que la croissance de *E. faecalis* et *S. anginosus* n'est pas affectée par le Ca(OH)_2 seul. Pour tous les pathogènes sélectionnés, l'ajout de CHX accélère la réduction de la charge bactérienne par rapport au Ca(OH)_2 seul et cet effet semble dose-dépendant. La comparaison des temps de réduction logarithmique (Tableau 6), définis comme le temps nécessaire pour réduire d'une unité la charge bactérienne initiale (exprimée en Log UFC/mL) montre peu de différence entre les concentrations 0,5 et 1% d'une part et 2 et 4% d'autre part. Sur *C. albicans* et *A. Naeslundii* la dose de CHX ne modifie pas significativement la vitesse de réduction de la charge bactérienne.

Tableau 6 : Comparaison du temps moyen de réduction logarithmique pour la pâte de Ca(OH)_2 + CHX à différentes concentrations

	0.5%	1%	2%	4%
<i>E. faecalis</i>	ND	3H31	2H50	2H28
	ND	± 1H34	± 1H29	± 1H06
<i>S. anginosus</i>	11H00	12H18	6H52	5H48
	± 2H38	± 5H50	± 2H53	± 3H28
<i>C. albicans</i>	4H13	6H39	5H47	4H24
	± 0H49	± 5H25	± 5H59	± 4H35
<i>A. Naeslundii</i>	7H46	5H25	4H31	5H55
	± 2H35	± 3H	± 1H47	± 2H35

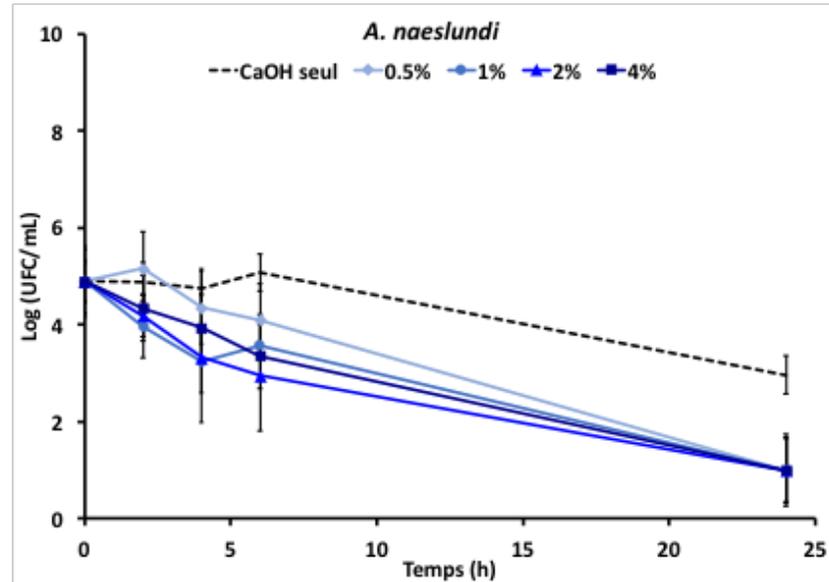
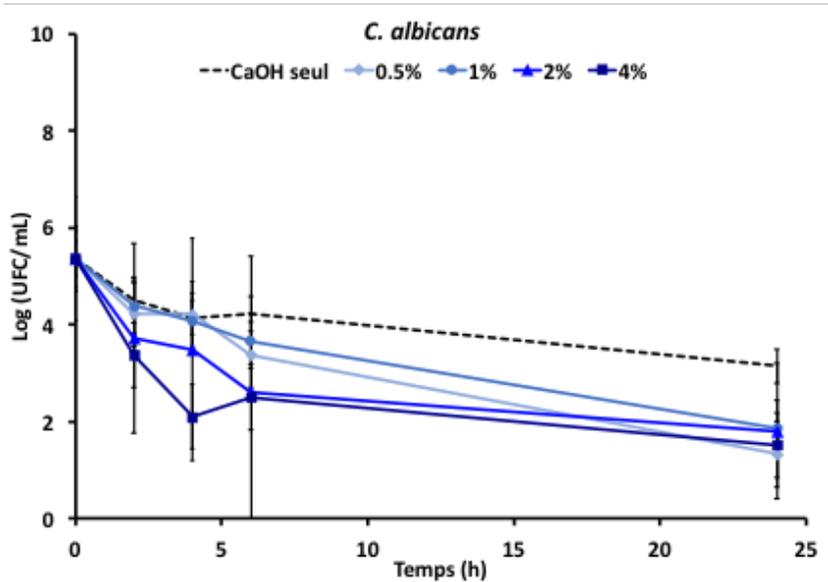
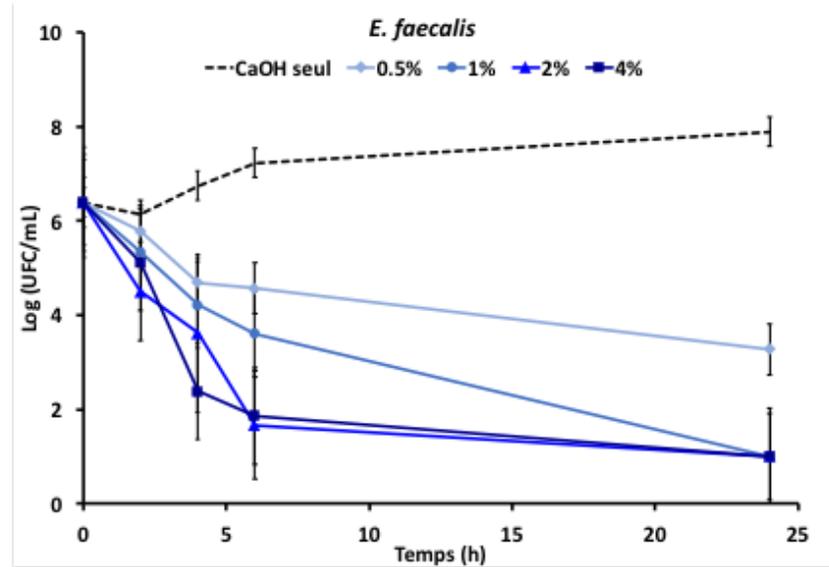
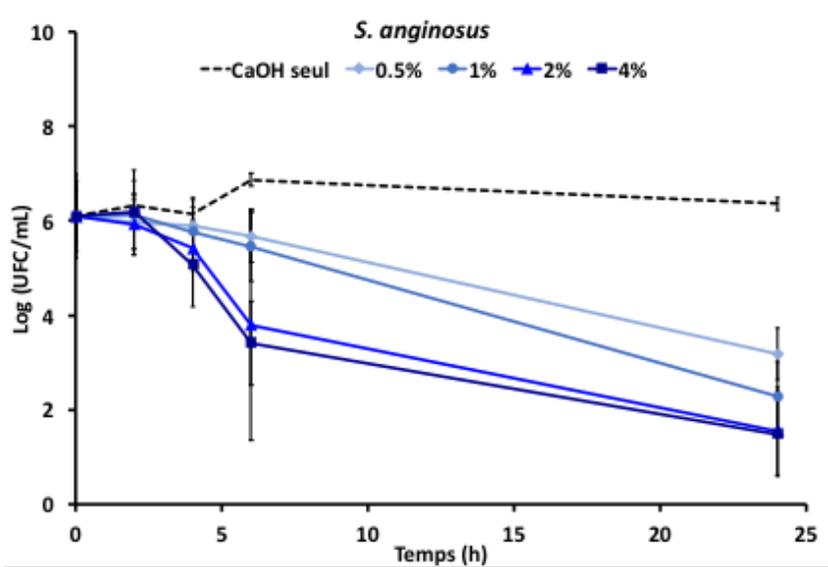


Figure 14 : Test de Kill-Time, courbes représentant la cinétique de l'effet antimicrobien du Ca(OH)₂ seul (pointillés) ou du mélange Ca(OH)₂ + CHX (traits pleins) sur 4 différents pathogènes de la flore endodontique

6.4 Discussion

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un projet en deux volets qui a pour but de mieux comprendre l'influence de l'ajout de CHX sur l'efficacité de la préparation magistrale de Ca(OH)_2 pâteux utilisée pour le traitement endodontique. Dans un premier temps, des travaux préliminaires ont évalué les propriétés mécaniques du mélange et permis de définir une formulation dont la texture est adaptée à l'injection intracanalair. Dans un deuxième temps, notre objectif ici était d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de la préparation avec ou sans CHX ainsi que l'effet de la dose de CHX sur ces propriétés.

D'après la littérature, la CHX serait plus efficace en tant que médicament intracanalair que le Ca(OH)_2 pour éliminer *E. faecalis* des tubules dentinaires [21]. Dans une étude d'Almyroudi et al. (2002), toutes les formulations de CHX utilisées, y compris un mélange Ca(OH)_2 + CHX en solution (50:50), ont été efficaces pour éliminer *E. faecalis* des tubules dentinaires [1]. Le gel de 1% de CHX était le plus efficace par rapport aux autres préparations. Ces résultats ont été corroborés par Gomes et al. (2003) avec la dentine bovine et Schäfer et Bossmann (2005) avec la dentine humaine où le gel de CHX à 2% avait une plus grande activité contre *E. faecalis*, suivi de Ca(OH)_2 + CHX en solution et ensuite de Ca(OH)_2 seul [21,39]. Donyavi et al. (2016) ont quant à eux, d'abord prouvé que l'application de Ca(OH)_2 + CHX en solution pendant deux semaines entraînait une réduction significative du nombre de colonies aérobies, anaérobies et de *E. faecalis*. Néanmoins, ils ont aussi montré que la réduction du nombre de colonies de *E. faecalis* n'était pas significativement différente entre le groupe témoin (sans médication intracanalair) et le groupe test (médication intracanalair à base de Ca(OH)_2 + CHX) [11]. Concernant *C. albicans*, dans l'étude de Ercan et al. (2006), le gel à 2% de CHX était également significativement plus efficace que le mélange de Ca(OH)_2 + CHX en solution à 2% contre *C. albicans* à 7 jours, bien qu'il n'y ait pas eu de différence significative à 15 et 30 jours. Ca(OH)_2 seul était complètement inefficace contre *C. albicans* [12]. Waltimo et al. (1999) ont rapporté que 0,5% de CHX en gel était plus efficace pour tuer *C. albicans* que le Ca(OH)_2 seul, de même que le Ca(OH)_2 associé à la CHX en solution était plus efficace que le Ca(OH)_2 utilisé seul [56].

Le choix de la structure s'est porté sur la CHX en solution plutôt que sous forme de gel. En effet, contrairement à la CHX sous forme de gel, la CHX en solution permet

d'obtenir une consistance de pâte optimale lorsqu'elle est mélangée au Ca(OH)_2 . De plus, le mélange CHX et Ca(OH)_2 apporte une meilleure barrière physique et chimique que la CHX en gel seule [22].

Par ailleurs, Waltimo et al. (1999) ont indiqué que le pH élevé du Ca(OH)_2 n'avait pas été affecté lorsqu'il a été combiné à la CHX dans cette étude [56]. Ainsi, nos résultats sont cohérents avec les données de la littérature, puisque les mesures de pH de notre étude montrent une stabilité du pH alcalin du milieu de libération au cours du temps indépendamment de la présence et de la dose de CHX [50]. Ils suggèrent que la CHX n'altère pas les propriétés anti-microbiennes et anti-inflammatoires de la préparation de Ca(OH)_2 .

L'addition de CHX vise à potentialiser l'action antimicrobienne du Ca(OH)_2 . En effet, la CHX est un antimicrobien puissant et à large spectre comme le confirme son effet bactériostatique et bactéricide à faibles doses ($<16\text{mg/L}$) sur tous les pathogènes sélectionnés pour cette étude. La mesure des diamètres de la zone d'inhibition montre clairement un effet antimicrobien du Ca(OH)_2 , avec ou sans CHX sur les pathogènes considérés. Il est intéressant de remarquer que sur la base des résultats du test de diffusion, le bénéfice supplémentaire de la CHX semble limité voire inexistant sur *E. faecalis* et *C. albicans* pour lesquels aucune différence n'est observée. Ces résultats pourraient expliquer la controverse sur l'intérêt du mélange Ca(OH)_2 + CHX d'un point de vue microbiologique [1,5,12,14,26,51]. Les tests complémentaires montrent des diamètres d'inhibition plus importants avec la CHX seule en solution qu'avec le mélange Ca(OH)_2 + CHX. Ceci peut être lié à une interaction entre la CHX et le Ca(OH)_2 qui limite la diffusion de la CHX dans le gel d'agarose. L'hypothèse d'une dénaturation de la CHX en milieu basique a été avancée pour expliquer ce phénomène mais ne justifie pas son caractère bactérie-dépendant [37]. Toutefois, les résultats de tests de diffusion doivent être interprétés avec prudence du fait des limites connues de ce test. En effet, la présence et la taille d'une zone d'inhibition dépend d'autres paramètres que l'activité intrinsèque du principe actif tels que la vitesse de croissance des bactéries, la capacité de diffusion de l'actif et ses interactions dans le milieu. De plus, la présence d'un diamètre d'inhibition ne permet pas de distinguer un effet bactériostatique ou bactéricide [3]. Pour mieux caractériser l'efficacité antimicrobienne du mélange Ca(OH)_2 + CHX, des tests de cinétique (*Kill-Time*) ont été effectués. Ils permettent de mesurer au cours du temps l'effet du produit testé sur la réduction de la charge bactérienne dans le milieu. D'après les résultats du présent travail, l'ajout de

CHX augmente effectivement l'effet bactéricide du Ca(OH)_2 . Cette potentialisation est très significative pour la souche de *E. faecalis* étudiée qui est résistante au Ca(OH)_2 seul comme rapporté dans de nombreuses études [5,9,11]. Cette résistance serait liée à un mécanisme de pompes à protons spécifiques et à un système enzymatique qui contrôle le pH cytoplasmique [15]. Il est intéressant de noter que dans notre étude, *S. anginosus*, une bactérie cariogène et par conséquent acidophile semble également résistante à l'alcalinisation du milieu provoquée par le Ca(OH)_2 . L'effet bactéricide du mélange Ca(OH)_2 + CHX semble corrélé à la dose de CHX. Cependant, les différences sont peu significatives notamment entre les concentrations 0,5% - 1% d'une part et 2% - 4% d'autre part. L'évaluation des propriétés mécaniques menée en parallèle et présentée dans un autre travail montre que l'ajout de 4% de CHX rend la préparation très difficile à injecter. Ceci pourrait justifier de limiter la dose maximale de CHX à 2% pour bénéficier à la fois de l'effet antimicrobien et d'une consistance adéquate.

Ainsi, le mélange Ca(OH)_2 + CHX semble présenter de nombreux avantages [22]:

- l'activité antimicrobienne est plus élevée que celle du Ca(OH)_2 seul,
- le pH d'environ 12, supérieur à celui de la CHX seule (pH de 5,5 à 7,0), peut aider au contrôle de la résorption radiculaire inflammatoire, qu'elle soit interne ou externe,
- la rémanence grâce à la présence de la CHX,
- la barrière physique et chimique, meilleure que celle du gel à 2% de CHX seule, empêche la réinfection du canal radiculaire et interrompt l'apport d'éléments nutritifs aux bactéries résiduelles,
- l'angle de contact du Ca(OH)_2 + CHX est inférieur à celui observé lorsque le Ca(OH)_2 est combiné à de l'eau, ce qui augmente la mouillabilité du médicament et peut expliquer l'augmentation de l'activité antimicrobienne,
- bien que ceci soit discuté, la CHX améliore les propriétés de réduction de la teneur en endotoxines dans les canaux radiculaires *in vitro*,
- la diffusion à travers les tubules dentinaires,
- la radio-opacité, idéalement similaire à celle de la dentine radiculaire.

Pour agir uniquement en tant que barrière physique, ce médicament peut être utilisé pendant une courte période. Il a été observé que pour atteindre son activité antimicrobienne optimale, il devrait rester pendant 15 à 30 jours à l'intérieur du canal

radiculaire, sans être modifié. L'action antimicrobienne immédiate de la pâte au cours des 7 premiers jours semble être liée à l'effet antimicrobien de la CHX. Cet effet reste stable jusqu'à 14 jours. La meilleure action est observée dans les 30 jours, avec la diffusion des ions hydroxyles à travers les tubules dentinaires. La pose d'une restauration coronaire assure une étanchéité efficace, empêchant la contamination du canal radiculaire et la solubilisation du médicament par les fluides oraux, en particulier pendant des périodes supérieures à 7 jours [22]. Dans notre étude l'activité bactérienne étant quasi nulle à 24h, nous n'avons pas jugé utile d'observer la décroissance bactérienne sur une plus longue période.

L'association de Ca(OH)_2 et de CHX permettrait donc de conserver certains avantages du Ca(OH)_2 tout en augmentant l'activité antimicrobienne de la pâte de Ca(OH)_2 . Néanmoins, l'intérêt de cette association reste controversée. La CHX a une activité antimicrobienne optimale dans une plage de pH de 5,5 à 7,0. Par conséquent, il est probable que le fait d'alcaliniser le pH en ajoutant du Ca(OH)_2 à la CHX conduise à la précipitation des molécules de CHX, ce qui réduira son efficacité. Haenni et al. (2003) ont démontré que l'alcalinité du Ca(OH)_2 , lorsqu'elle était mélangée avec de la CHX, restait inchangée. Cependant, le Ca(OH)_2 n'a pas perdu ses propriétés antibactériennes dans un tel mélange. Cela peut être dû à la déprotonation de la CHX à un $\text{pH} > 10$. Cela réduirait sa solubilité et modifierait son interaction avec les surfaces bactériennes du fait de la charge altérée des molécules. [29].

De plus, il a été rapporté que l'effet antimicrobien de cette association n'est pas dû à la molécule de CHX, mais à l'action de différents sous-produits générés par la fragmentation de la CHX. De tels sous-produits présentent à la fois des propriétés antioxydantes et pro-oxydantes et ont un pH élevé [22]. À cause de la dégradation de la CHX, des traces de para-chloroaniline (PCA), composant potentiellement cancérigène, sont parfois retrouvées dans l'association CHX + Ca(OH)_2 [4]. Par conséquent, plusieurs interrogations subsistent et l'utilité de mélanger le Ca(OH)_2 avec la CHX reste encore incertaine et controversée.

Un des objectifs de cette étude (qui n'a pas pu être atteint dans le cadre du stage de Master 1) était de corrélérer les résultats microbiologiques obtenus au profil de libération de la CHX dans le milieu. Pour cela, les milieux de libération ont été renouvelés quotidiennement et congelés pour des analyses ultérieures. En effet, certaines études suggèrent qu'en milieu fortement alcalin, la CHX se dégrade de façon

quasi-totale. La PCA fait partie des nombreux produits de dégradation décrits [4]. La formation de PCA avait précédemment été décrite comme le résultat d'une interaction entre la CHX et le NaOCl utilisé pour le rinçage canalaire. Il avait alors été recommandé d'éviter la combinaison de solutions de CHX et de NaOCl comme irrigants canaux. Cependant, des études plus récentes ne retrouvent aucune trace de PCA dans le mélange NaOCl + CHX [33]. Des travaux complémentaires seront nécessaires pour rechercher la présence de produits de dégradation de la CHX en milieu alcalin, notamment la PCA, doser la quantité relarguée dans le milieu et évaluer leur toxicité biologique. Les techniques de chromatographie en phase gazeuse et de spectroscopie de masse pourraient être utilisées pour ce faire. La mise en œuvre de modèles de biofilms endodontiques multi-espèces est également une perspective de ce projet. Elle permettrait d'évaluer l'efficacité antimicrobienne des médications intracanales dans des conditions proches de celles retrouvées *in-vivo*. Enfin, ce travail pourrait contribuer à la mise au point de supports innovants pour la libération contrôlée de principes actifs dans le système endocanalaire.

7 Conclusion

L'objectif de cette étude était d'étudier l'influence de la CHX sur l'efficacité du Ca(OH)_2 utilisé en thérapeutique endodontique sur 4 pathogènes régulièrement retrouvés en cas d'infections persistantes (*E. faecalis*, *S. anginosus*, *C. albicans* et *A. naeslundii*).

Les résultats de cette étude ont montré que d'une part, l'ajout de CHX ne modifiait pas le pH alcalin de la pâte et que d'autre part, tous les pathogènes étudiés étaient sensibles à la combinaison CHX et Ca(OH)_2 . Cela s'est traduit par une augmentation de l'effet antimicrobien. La formulation à 2% de CHX digluconate semble être le meilleur compromis pour avoir un effet antibactérien intéressant tout en conservant les avantages que représentent le Ca(OH)_2 .

Ce travail a permis de montrer que l'ajout de CHX au Ca(OH)_2 était un moyen simple et efficace de potentialiser l'efficacité antimicrobienne de la préparation extemporanée de Ca(OH)_2 utilisée en médication intracanalair en endodontie. Ce mélange pourrait améliorer la désinfection du système endocanalair, notamment l'élimination de *E. faecalis*, fortement associé aux infections persistantes et aux échecs de traitement. Les résultats de la présente étude montrent également l'influence de la dose de CHX sur l'efficacité antimicrobienne de la préparation et pourraient guider le clinicien dans la préparation du mélange Ca(OH)_2 + CHX.

L'idée de coupler la CHX avec le Ca(OH)_2 vient du fait que la CHX est un agent antiseptique à large spectre déjà largement utilisé en pratique dentaire. Par ailleurs le Ca(OH)_2 reste le « gold standard » des médications intracanalaires notamment grâce à son pouvoir antibactérien du fait de son pH fortement basique. De plus, constituant une barrière physique et étant radio-opaque, il assurerait ici un support intéressant pour l'apport de CHX. Cette combinaison pourrait être une voie de traitement contre les infections persistantes. En effet, celles-ci étant polymicrobiennes, la combinaison de ces 2 agents élargirait le spectre contre la majorité des bactéries impliquées et permettrait de lutter contre ces infections persistantes.

Enfin, cette étude ouvre de nombreuses perspectives pour la mise au point et l'optimisation de systèmes de libération contrôlée pour le traitement endodontique.

8 Liste des figures

Figure 1 : Étapes du traitement endodontique.....	16
Figure 2 : Voies de contamination bactérienne de l'endodonte	19
Figure 3 : Conséquences de la présence de bactéries à différents stades du traitement endodontique	27
Figure 4 : La LIPOE, conflit dynamique entre infection bactérienne endocanalaire et réponse de l'Hôte.....	32
Figure 5 : Représentation schématique de la dynamique inflammatoire au cours des réactions périapicales	35
Figure 6 : Microbiologie du traitement endodontique des dents présentant une LIPOE	36
Figure 7 : Schéma protocole du Test Kill-Time	55
Figure 8 : Évolution du pH du milieu de libération de la pâte de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ avec ou sans CHX.....	55
Figure 9 : Identification des souches, analyse morphologique au microscope optique après coloration de Gram (grossissement 1000x).....	56
Figure 10 : Test de diffusion (agar-well diffusion) sur gélose Columbia	57
Figure 11 : Illustration des zones d'inhibition observées pour les préparations de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX.....	57
Figure 12 : Test de diffusion (agar-well diffusion) sur gélose Columbia, diamètres d'inhibition pour <i>E. faecalis</i> et <i>C. albicans</i> avec une CHX seule ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX	58
Figure 13 : Illustration des zones d'inhibition observées pour les solutions de CHX seule pour <i>C. albicans</i>	58
Figure 14 : Test de Kill-Time, courbes représentant la cinétique de l'effet antimicrobien du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ seul (pointillés) ou du mélange $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX (traits pleins) sur 4 différents pathogènes de la flore endodontique	60

9 Liste des tableaux

Tableau 1 : Les bactéries face à un traitement inadéquat	25
Tableau 2 : Les espèces microbiennes présentes dans les canaux radiculaires au stade de l'obturation et en cas de retraitement.....	28
Tableau 3 : Identification des espèces bactériennes persistantes après des procédures de désinfection intracanalaires	29
Tableau 4 : Données d'études sur les espèces bactériennes présentes en cas d'échecs de traitement.....	30
Tableau 5 : Susceptibilité des souches étudiées à la CHX, CMI et CMB	56
Tableau 6 : Comparaison du temps moyen de réduction logarithmique pour la pâte de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + CHX à différentes concentrations	59

10 Références bibliographie

1. Almyroudi A, Mackenzie D, Mchugh S, Saunders W. The Effectiveness of Various Disinfectants Used as Endodontic Intracanal Medications: An In Vitro Study. *J Endod.* 2002;28(3):163-7.
2. Antunes HS, Rôças IN, Alves FRF, Siqueira JF. Total and Specific Bacterial Levels in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-treatment Apical Periodontitis. *J Endod.* 2015;41(7):1037-42.
3. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016;6(2):71-9.
4. Barbin LE, Saquy PC, Guedes DFC, Sousa-Neto MD, Estrela C, Pécora JD. Determination of para-Chloroaniline and Reactive Oxygen Species in Chlorhexidine and Chlorhexidine Associated with Calcium Hydroxide. *J Endod.* 2008;34(12):1508-14.
5. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2003;96(5):618-24.
6. Beattie TK, Seal DV, Tomlinson A, McFadyen AK, Grimason AM. Determination of Amoebicidal Activities of Multipurpose Contact Lens Solutions by Using a Most Probable Number Enumeration Technique. *J Clin Microbiol.* 2003;41(7):2992-3000.
7. Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of Growth Conditions on Susceptibility of Five Microbial Species to Alkaline Stress. *J Endod.* 2008;34(5):579-82.
8. Braz-Silva PH, Bergamini ML, Mardegan AP, De Rosa CS, Hasseus B, Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(3):173-80.
9. Chai WL, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA, Abdullah M. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. *J Oral Sci.* 2007;49(2):161-6.
10. Delepierre angelique. Évaluation des propriétés antibactériennes d'un implant se formant in situ pour le traitement des poches parodontales. Université de Lille; 2017.
11. Donyavi Z, Ghahari P, Esmaeilzadeh M. Antibacterial Efficacy of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Mixture for Treatment of Teeth with Primary Endodontic Lesions: A Randomized Clinical Trial. *Iran Endod J [Internet].* 2016 [consulté le 8 mai 2019]; Disponible sur: <http://doi.org/10.22037/iej.2016.1>
12. Ercan E, Dalli M, Dülgergil ÇT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2006;102(2):e27-31.
13. Erdemir A, Ari H, Gungunes H, Belli S. Effect of Medications for Root Canal Treatment on Bonding to Root Canal Dentin. *J Endod.* 2004;30(2):113-6.
14. Evans M, Baumgartner J, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of Calcium Hydroxide: Chlorhexidine Paste as an Intracanal Medication in Bovine Dentin. *J Endod.* 2003;29(5):338-9.
15. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002;35(3):221-8.
16. Farges J-C, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ, et al. Dental Pulp Defence and Repair Mechanisms in Dental Caries. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:1-16.
17. Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J.* 1999;32(4):257-82.

18. Ferraz C, Dealmeidagomes B, Zaia A, Teixeira F, Desouzafilho F. In Vitro Assessment of the Antimicrobial Action and the Mechanical Ability of Chlorhexidine Gel as an Endodontic Irrigant. *J Endod.* 2001;27(7):452-5.
19. Foliguet M, Bravetti PG. Aspects cliniques et histologiques des kystes et granulomes périapicaux : à propos de 30 cas. 2006;
20. Gomes BPF de A, Herrera DR. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res [Internet].* 2018 [consulté le 6 avr 2019];32(suppl 1). Disponible sur: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242018000500604&lng=en&tlng=en
21. Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36(4):267-75.
22. Gomes BPF, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in Endodontics. *Braz Dent J.* 2013;24(2):89-102.
23. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TMT, Orstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J.* 2000;33(2):126-31.
24. Lasfargues J-J, Machtou P. Pathogénèse des lésions périapicales. 2001;12:10.
25. Lindskog S, Piercs AM, Blomiöf L. Ghlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. *Dent Traumatol.* 2007;14(4):186-90.
26. Lynne R, Liewehr F, West L, Patton W, Buxton T, Mcphersoniii J. In Vitro Antimicrobial Activity of Various Medication Preparations on *E. faecalis* in Root Canal Dentin. *J Endod.* 2003;29(3):187-90.
27. Mcgurkinsmith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of Intracanal Bacteria Using GT Rotary Instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. *J Endod.* 2005;31(5):359-63.
28. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42(4):288-302.
29. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology: Calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J.* 2011;44(8):697-730.
30. Murad CF, Sassone LM, Faveri M, Hirata R, Figueiredo L, Feres M. Microbial Diversity in Persistent Root Canal Infections Investigated by Checkerboard DNA-DNA Hybridization. *J Endod.* 2014;40(7):899-906.
31. Mustafa M, Kp S, Jain D, Sajjanshetty S. Role Of Calcium Hydroxide In Endodontics. 2012;1:5.
32. Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
33. Orhan EO, Irmak Ö, Hür D, Yaman BC, Karabucak B. Does Para-chloroaniline Really Form after Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine? *J Endod.* 2016;42(3):455-9.
34. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34(6):429-34.
35. Pereira RS, Rodrigues VAA, Furtado WT, Gueiros S, Pereira GS, Avila-Campos MJ. Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. *Anaerobe.* 2017;48:12-8.
36. Plutzer B, Zilm P, Ratnayake J, Cathro P. Comparative efficacy of endodontic medicaments and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Aust Dent J.* 2018;63(2):208-16.
37. Saatchi M, Shokraneh A, Navaei H, Maracy MR, Shojaei H. Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: a systematic review and meta-analysis. *J Appl Oral Sci.* 2014;22(5):356-65.

38. Sakamoto M, Siqueira JF, Rôças IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(1):19-23.
39. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Two Calcium Hydroxide Formulations Against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005;31(1):53-6.
40. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38(10):735-42.
41. Semennikova K, Colon P. *BioMatériaux Cliniques. Cim Tricalciques.* 2016;1 n°2:17.
42. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Dent Traumatol.* 1995;11(1):6-9.
43. Simon S, Machtou P, Pertot, Wilhelm-Joseph. *Endodontie.* Rueil-Malmaison, France: Editions Cdp; 2012.
44. Singh BD, Prof.& HOD BR PG Student. Calcium Hydroxide in Dentistry. *Chettinad Health City Med J.* 2016;5(1):5.
45. Siqueira JF, Magalhães KM, Rôças IN. Bacterial Reduction in Infected Root Canals Treated With 2.5% NaOCl as an Irrigant and Calcium Hydroxide/Camphorated Paramonochlorophenol Paste as an Intracanal Dressing. *J Endod.* 2007;33(6):667-72.
46. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *J Endod.* 2008;34(11):1291-1301.e3.
47. Siqueirajr J, Guimaraespinto T, Rocas I. Effects of Chemomechanical Preparation With 2.5% Sodium Hypochlorite and Intracanal Medication With Calcium Hydroxide on Cultivable Bacteria in Infected Root Canals. *J Endod.* 2007;33(7):800-5.
48. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 30 oct 2003;30(5):297-306.
49. Smith T. *Parasitism and disease.* Princeton, États-Unis d'Amérique: Princeton University Press; 1934.
50. Souza-Filho FJ de, Soares A de J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPF de A. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J.* 2008;19(1):28-33.
51. Sukawat C, Srisuwan T. A Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Three Calcium Hydroxide Formulations on Human Dentin Infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2002;28(2):102-4.
52. Tomás I, Donos N, Rubido S. In situ antimicrobial activity of chlorhexidine in the oral cavity. 2011 [consulté le 26 mai 2019]; <http://rgdoi.net/10.13140/2.1.4496.6404>
53. Vianna ME, Gomes BPF, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2004;97(1):79-84.
54. Vianna ME, Horz H-P, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BPF. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(6):411-8.
55. Victoire-Eugénie QUINSAT. traitements endodontiques [Internet]. Disponible sur: <https://dr-becarelli-philippe.chirurgiens-dentistes.fr/>
56. Waltimo TMT. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J.* 1999;32(2):94.
57. Weiger R, Rosendahl R, Lost C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *Int Endod J.* 2000;33(3):219-26.
58. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. *J Endod.* 2015;41(8):1207-13.

59. Zoletti GO, Siqueira JF, Santos KRN. Identification of *Enterococcus faecalis* in Root-filled Teeth With or Without Periradicular Lesions by Culture-dependent and—Independent Approaches. *J Endod.* 2006;32(8):722-6.

Médication intracanalair en endodontie : Hydroxyde de calcium et chlorhexidine / **PISKORSKI Guillaume**.- p. (73) : ill. (20) ; réf. (59).

Domaines : Endodontie

Mots clés Rameau : Endodontie ; Chlorhexidine ; Candida albicans

Mots clés FMeSH : Endodontie ; Hydroxyde de calcium ; Chlorhexidine ; Enterococcus faecalis, Candida albicans ; Streptococcus anginosus

Mots clés libres : Infection persistante ; Médication intracanalair ; Actinomyces naeslundii

Résumé de la thèse :

En endodontie, dans la pratique quotidienne, le clinicien peut être confronté à la persistance de bactéries. *E. faecalis*, *S. anginosus*, *C. albicans* et *A. naeslundii* sont régulièrement mis en cause parmi les bactéries responsables d'infections persistantes. Ces bactéries peuvent être considérées comme étant résistantes à l'hydroxyde de calcium (Ca(OH)₂). Le Ca(OH)₂ est décrit comme étant le « gold standard » de la médication intracanalair pour lutter contre les infections persistantes. Il possède de nombreuses propriétés, notamment antimicrobiennes liées à son pH fortement basique. Pourtant il reste inefficace contre certaines bactéries. L'idée de coupler le Ca(OH)₂ à la chlorhexidine (CHX) vient du fait que la CHX est un agent antimicrobien à large spectre. Le but de ce mélange serait de potentialiser l'effet antimicrobien. L'effet bénéfique de ce mélange étant controversé, un travail de recherche a été réalisé dans le but d'étudier l'influence de la CHX sur l'efficacité du Ca(OH)₂, utilisé en thérapeutique endodontique, en cas d'infections persistantes. Les résultats de cette étude ont montré que l'ajout de CHX ne modifiait pas le pH alcalin de la pâte et que tous les pathogènes étudiés étaient sensibles à la combinaison CHX et Ca(OH)₂. Cela s'est traduit par une augmentation de l'effet antimicrobien. La formulation à 2% de CHX digluconate semble être le meilleur compromis pour avoir un effet antibactérien intéressant tout en conservant les avantages que représentent le Ca(OH)₂ en tant que support. Ce travail ouvre des perspectives quant aux possibilités de traitements contre les infections persistantes.

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Etienne DEVEAUX

Assesseurs : Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Monsieur le Docteur Kévimy AGOSSA

Madame le Docteur Kadiatou SY